

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Hebammenwissenschaft – Versorgungsforschung &  
Prävention

Frau Prof. Dr. oec. troph. Birgit-Christiane Zyriax

## **Assoziation zwischen Nahrungsergänzungsmitteln und der Präsenz sowie dem Gray-Scale Median von Karotisplaques**

### **Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Julia Maria Assies  
aus Papenburg

Hamburg 2023

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 26.03.2026**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Antonia Zapf**

**Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Ewa Stürmer**

**Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. Rainer Böger**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Originalarbeit (Paper)</b> .....	V
<b>2.</b>	<b>Darstellung der Publikation</b> .....	1
2.1	Einleitung .....	1
2.2	Methoden .....	3
2.3	Ergebnisse .....	7
2.3.1	Baseline-Charakteristika der GSM-Untergruppe .....	7
2.3.2	Lineare Regression zwischen der Supplementeinnahme mit dem GSM.....	8
2.3.3	Logistische Regression für die Plaque-Präsenz .....	8
2.4	Diskussion.....	9
2.5	Zusammenfassung (Deutsch).....	15
2.6	Summary (English) .....	16
<b>3.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	17
<b>4.</b>	<b>Erklärung des Eigenanteils an der Publikation</b> .....	XXI
<b>5.</b>	<b>Danksagung</b> .....	XXII
<b>6.</b>	<b>Lebenslauf</b> .....	XXIII
<b>7.</b>	<b>Eidesstattliche Versicherung</b> .....	XXIV

## Abkürzungsverzeichnis

AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V.
BMI	Body-Mass-Index
cIMT	Intima-Media-Dicke in den Karotiden (engl. <i>carotid intima-media-thickness</i> )
CSV	Comma-Separated Values (Datei-Format)
CVD	Kardiovaskuläre Erkrankung (engl. <i>cardiovascular disease</i> )
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine (Datei-Format)
EPIC	European Perspective Investigation into Cancer and Nutrition
FFQ2	Food frequency questionnaire, Version 2
GSM	Gray-Scale Median
HCHS	Hamburg City Health Study
Hcy	Homocystein
HDL	High Density Lipoprotein
IQR	Interquartilsabstand
ISCED	International Standard Classification of Education
KI	Konfidenzintervall
LDL	Low Density Lipoprotein
OR	Odds Ratio
PNG	Portable Network Graphics (Datei-Format)
STROBE	Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology

## 1. Originalarbeit (Paper)

*„Cross-Sectional Association of Dietary Patterns and Supplement Intake with Presence and Gray-Scale Median of Carotid Plaques — A Comparison between Women and Men in the Population-Based Hamburg City Health Study“*









—

Assies, J.M.; Sältz, M.D.; Peters, F.; Behrendt, C.-A.; Jagodzinski, A.; Petersen, E.L.; Schäfer, I.; Twerenbold, R.; Blankenberg, S.; Rimmele, D.L.; Thomalla, G.; Makarova, N.; Zyriax, B.-C.

*Nutrients* **2023**, *15*, 146 [1]

## Article

# Cross-Sectional Association of Dietary Patterns and Supplement Intake with Presence and Gray-Scale Median of Carotid Plaques—A Comparison between Women and Men in the Population-Based Hamburg City Health Study

Julia Maria Assies <sup>1,†</sup>, Martje Dorothea Sältz <sup>1,†</sup>, Frederik Peters <sup>2</sup>, Christian-Alexander Behrendt <sup>3</sup>, Annika Jagodzinski <sup>4</sup>, Elina Larissa Petersen <sup>3,5</sup>, Ines Schäfer <sup>3,5</sup>, Raphael Twerenbold <sup>3,5,6</sup>, Stefan Blankenberg <sup>3,5,6</sup>, David Leander Rimmelé <sup>7</sup>, Götz Thomalla <sup>7</sup>, Nataliya Makarova <sup>1,6,\*</sup> and Birgit-Christiane Zyriax <sup>1,6,‡</sup>

- <sup>1</sup> Midwifery Science—Health Care Research and Prevention, Research Group Preventive Medicine and Nutrition, Institute for Health Service Research in Dermatology and Nursing (IVDP), University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, W26, 20246 Hamburg, Germany; julia.assies@googlemail.com (J.M.A.); martje@saeltz.de (M.D.S.); b.zyriax@uke.de (B.-C.Z.)
- <sup>2</sup> Hamburg Cancer Registry, 20097 Hamburg, Germany
- <sup>3</sup> Population Health Research Department, University Heart and Vascular Center, 20246 Hamburg, Germany
- <sup>4</sup> Lohfert & Lohfert Working Group, 20148 Hamburg, Germany
- <sup>5</sup> Department of Cardiology, University Heart and Vascular Center, 20246 Hamburg, Germany
- <sup>6</sup> German Center for Cardiovascular Research (DZHK), Partner Site Hamburg/Kiel/Luebeck, 20246 Hamburg, Germany
- <sup>7</sup> Department of Neurology, University Medical Centre Hamburg-Eppendorf, Martinistraße 52, 20246 Hamburg, Germany
- \* Correspondence: n.makarova@uke.de
- † These authors contributed equally to this work.
- ‡ These authors contributed equally to this work.



**Citation:** Assies, J.M.; Sältz, M.D.; Peters, F.; Behrendt, C.-A.; Jagodzinski, A.; Petersen, E.L.; Schäfer, I.; Twerenbold, R.; Blankenberg, S.; Rimmelé, D.L.; et al. Cross-Sectional Association of Dietary Patterns and Supplement Intake with Presence and Gray-Scale Median of Carotid Plaques—A Comparison between Women and Men in the Population-Based Hamburg City Health Study. *Nutrients* **2023**, *15*, 1468. <https://doi.org/10.3390/nu15061468>

Academic Editor: Hayato Tada

Received: 16 February 2023

Revised: 15 March 2023

Accepted: 16 March 2023

Published: 18 March 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** This population-based cross-sectional cohort study investigated the association of the Mediterranean and DASH (Dietary Approach to Stop Hypertension) diet as well as supplement intake with gray-scale median (GSM) and the presence of carotid plaques comparing women and men. Low GSM is associated with plaque vulnerability. Ten thousand participants of the Hamburg City Health Study aged 45–74 underwent carotid ultrasound examination. We analyzed plaque presence in all participants plus GSM in those having plaques ( $n = 2163$ ). Dietary patterns and supplement intake were assessed via a food frequency questionnaire. Multiple linear and logistic regression models were used to assess associations between dietary patterns, supplement intake and GSM plus plaque presence. Linear regressions showed an association between higher GSM and folate intake only in men (+9.12, 95% CI (1.37, 16.86),  $p = 0.021$ ). High compared to intermediate adherence to the DASH diet was associated with higher odds for carotid plaques (OR = 1.18, 95% CI (1.02, 1.36),  $p = 0.027$ , adjusted). Odds for plaque presence were higher for men, older age, low education, hypertension, hyperlipidemia and smoking. In this study, the intake of most supplements, as well as DASH or Mediterranean diet, was not significantly associated with GSM for women or men. Future research is needed to clarify the influence, especially of the folate intake and DASH diet, on the presence and vulnerability of plaques.

**Keywords:** dietary patterns; supplements; carotid artery disease; cardiovascular disease; peripheral artery disease; carotid plaques; GSM; prevention

## 1. Introduction

Atherosclerotic cardiovascular disease (CVD) is widespread and is a leading cause of morbidity and mortality worldwide [1,2]. Atherosclerosis refers to a slowly progressive

process of plaque formation in the vessel wall. Plaque rupture, platelet activation and, consequently, secondary thrombosis may occur during the progression of the disease [3–6]. Thereby, the risk of cardio- and cerebrovascular events is increased. Ischemic strokes are caused by the rupture of plaques in the carotids in about 15% of cases [7,8]. The stability and vulnerability of plaques have a major impact on the risk of plaque rupture [9]. Stable plaques consist of a high amount of fibrous tissue and calcification. Unstable plaques, in contrast, are rupture-prone due to high lipid content, an oftentimes necrotic core and intra-plaque hemorrhage [10,11].

Measurement of carotid intima-media thickness (cIMT) and its progression is an established and widely used prognostic biomarker for future CVD events [12,13]. However, it does not provide any information about plaque composition and, thus, the vulnerability of plaques. Therefore, the measurement of plaque gray-scale median (GSM) may improve the detection of vulnerable plaques. GSM provides additional information on plaque morphology due to the measurement of densitometry of the plaque [14,15].

The previous literature has demonstrated that GSM is a suitable measurement to quantify and assess the vulnerability of carotid plaques based on their echogenicity on B-mode ultrasonography [14,16,17]. GSM correlates with histopathological findings in patients after carotid endarterectomy and thus reflects the composition of plaques [10,18–22]. More precisely, high GSM values correlate with predominantly echogenic, stable plaques with a higher grade of calcification and fibrosis, whereas low GSM values are associated with echolucent, vulnerable plaques [11,14]. Low GSM values in carotid plaques are associated with an increased risk for CVD events, especially ischemic strokes [23–25].

GSM and cIMT are associated with different risk factors. While cIMT correlates with traditional risk factors such as hypertension and smoking status, GSM correlates with other traditional risk factors like dyslipidemia as well as with markers of inflammation and oxidative stress [26,27]. This suggests that cIMT and GSM may depict different aspects of atherosclerosis, with GSM relating more to metabolic aspects [28]. In addition to GSM, the presence of carotid plaque is associated with the incidence of CVD events [29,30] and is further an established ultrasound surrogate of CVD [31,32]. Nutritional aspects are known to play a relevant role in the development of atherosclerosis and in the formation of plaques [33]. Hence, it is of great interest how both can be influenced through diet.

CVD may be prevented in up to 90% of cases by a healthy lifestyle [34]. Numerous studies investigating the association between dietary patterns and CVD have included Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet and the Mediterranean diet. Both adherence to the DASH diet and the Mediterranean diet are usually higher in women than in men [35–37]. Mediterranean diet has shown a primary prevention effect on CVD events as well as a tendency to slow down carotid plaque progression [38–44]. However, data on the association with GSM has been missing until now, and even the association between the Mediterranean diet and cIMT remains to be confirmed [45]. DASH diet is associated with fewer CVD events and lower cIMT values, while data regarding the association with GSM or plaque presence is not available [35,46,47].

Furthermore, dietary supplement intake is widespread in the general population [48]; for example, more than half of US adults take at least one supplement daily [49,50]. For Germany, the EPIC-Heidelberg cohort has shown an increasing prevalence of up to about 45% for vitamin/mineral supplement intake in a follow-up reassessment (2004–2006) [51]. The EPIC-Heidelberg cohort and many other studies have also revealed that women, in particular, are more likely to take supplements compared to men [49,51–54]. The main reasons for intake are general health and well-being and filling nutrient gaps [55].

According to previous studies, the associations between dietary supplements and CVD or cIMT remain unclear. Some data on B vitamins exist, especially for folic acid supplementation, which appears to be associated with benefits for CVD and, in particular, stroke risk [56–59]. Studies investigating associations between dietary supplement intake with GSM or plaque presence are lacking.

This study, therefore, aimed to examine associations between the dietary patterns Mediterranean diet and the DASH diet as well as dietary supplements (specifically multivitamins, multiminerals, calcium, magnesium, vitamin B and folate) and (a) the presence or (b) GSM of carotid plaques as predictors of CVD in women and men.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Population and Study Design

This study is part of the Hamburg City Health Study (HCHS). HCHS is a prospective, single-center, population-based cohort study. It aims to identify risk and prognostic factors of main chronic diseases. Participants must be inhabitants of Hamburg, Germany, at the time of enrollment, aged 45–74 years and must provide sufficient language skills for participating in the study. Participants are chosen randomly via the registration office. They sign an informed consent and undergo an extensive baseline evaluation. Detailed information on the HCHS has been published separately [60]. For this study, data from the first sub-cohort ( $n = 10,000$ ) was used. Data acquisition took place between 8 February 2016–30 November 2018.

### 2.2. Ultrasound Images

B-mode duplex sonography was performed by trained study assistants using a Siemens SC2000<sup>®</sup> Ultrasound System and a 7.5 Mhz broadband linear transducer. Measurement of the cIMT was performed three times. The carotid bulb, common carotid artery and internal and external carotid artery were then scanned for plaques using the longitudinal view of carotid artery. A plaque was defined as a local cIMT  $\geq 1.5$  mm.

### 2.3. Gray-Scale Median

Carotid ultrasound scans were saved in DICOM (digital imaging and communications in medicine) format after performing the sonography. In the next step, echogenicity of carotid plaques was analyzed using software that was specifically written for this project's purpose, based on the open-source project JS Paint [61,62]. Plaques were segmented manually by outlining the plaques using the computer mouse. One additional marker was drawn in the vessel lumen, and a second in the adventitia. Each plaque was segmented twice by different operators to minimize interobserver reliability. Interobserver reliability was determined based on a random sub-sample of 135 (5%) participants that were evaluated by all observers. Remeasurements of outliers were performed. Images were saved as portable network graphics (PNG) files after segmentation. Next, image brightness was normalized using the vessel lumen as the reference structure for darkness (GSM = 0) and the adventitia as the reference structure for brightness (GSM = 190). Both grayscale values were chosen based on the existing literature [63]. In general, GSM values range from 0, indicating total black, to 255, indicating total white. Noise reduction and cropping of the images were performed automatically. Finally, minimum, maximum, mean and median grayscale values were calculated and output in a comma-separated values (CSV) file. Primary outcome of the present study was the mean value over all individual echogenicity measurements as numerical variable.

### 2.4. Questionnaires and Dietary Scores

Dietary habits and intake of nutrition supplements were assessed in questionnaires. For dietary intake, the food frequency questionnaire (version 2, FFQ2) developed for the European Perspective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study was used [64]. It samples information on frequency and portion size of 102 food items consumed during the previous year. Information was collected and analyzed in terms of energy intake, food groups and nutrients.

The validated German translation of the Mediterranean Diet Adherence Score (MEDAS) was used for evaluating adherence to a Mediterranean diet [65]. It contains twelve questions on food items and two questions on food habits (Supplementary Material Table S1). For

each item, a score of 0 indicates a non-adherence, whereas a score of 1 indicates adherence. Finally, the score was grouped by quantiles into the categories 0–3, 4, 5 and 6+.

Adherence to the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet was assessed using a scoring system adapted from Folsom et al. [66]. The score includes ten items on consumption of grains, vegetables, fruits, dairy, meat/poultry/fish, nuts/seeds/legumes and sweets (obtained from raw data) and average daily intake of nutrients (saturated fat, fat, sodium) (Supplementary Material Table S2). Each item was scored from 0 to 1. Finally, the score was grouped by quantiles into the categories 0–3.5, 3.6–4.5, 4.6–5.0 and 5.1+.

The FFQ2 continued to ask about the use of dietary supplements for at least one month in the last twelve months, specifically multipreparations (multivitamin or multimineral preparations or both) or 14 single and simple combination preparations, as well as nine natural health products. For this study, data on multivitamin and multimineral preparations as well as calcium, magnesium, vitamin B complex and folic acid, were included.

### 2.5. Statistical Analysis

In the descriptive analysis, continuous data are presented as the median and interquartile range (IQR), and categorical data as absolute numbers and percentages.

Multiple linear regressions were used to assess the association between echogenicity and dietary and supplement intake, i.e., nutritional supplements, DASH diet, MEDAS within GSM-sub-cohort ( $n = 2163$ ). All models were estimated separately for males and females and adjusted for not performing any sports (examined as ‘never performing sports except for cycling or walking’), age, socioeconomic status index (including education, profession, salary), body mass index (BMI), smoking status, energy intake (kcal), dyslipidemia, hypertension, diabetes mellitus, myocardial infarction, heart failure, atrial fibrillation, history of stroke or transient ischemic attack (TIA), peripheral arterial disease, estimated glomerular filtration rate (eGFR), lipid-lowering drugs, antihypertensive medication, antidiabetic medication, use of antiplatelets. Central results were presented as betas with 95% confidence intervals. We did not adjust for multiple comparisons. We imputed missing values by multivariate imputation by chained equations separately for twenty copies of the data with ten iterations. Subsequently, estimates were averaged, and standard errors were adjusted using Rubin’s rules [67].

We performed additional analysis regarding the presence of at least one carotid plaque using multiple logistic regressions within a full cohort of 10,000 participants. For the full-adjusted model, age, sex, education, body-mass index, diabetes mellitus, arterial hypertension, hyperlipidemia, smoking status, heart failure, atrial fibrillation, myocardial infarction, stroke and sports were used for adjustment. Education was divided into three categories (low, medium and high) based on the International Standard Classification of Education (ISCED 1011).

Statistical significance was defined as an  $\alpha = 0.05$ . We adhered to the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement [68]. All analyses were performed in R version 4.0.3.

## 3. Results

### 3.1. Baseline Characteristics of GSM-Sub-Cohort

From the HCHS cohort of 10,000 participants, GSM was assessed for 2163 participants having at least one carotid plaque (Figure 1). The baseline characteristics of these participants, consisting of 921 (42.6%) women and 1242 (57.4%) men, are shown in Table 1. Here, the median age of women and men at recruitment was 68 (IQR (62, 73)) years. Obesity was found in 272 (21.9%) men and 187 (20.3%) women. Overall, 486 (22.5%) were current smokers. Of men, 397 (32.0%) were not performing any sports, whereas 249 (27.0%) women were not exercising.

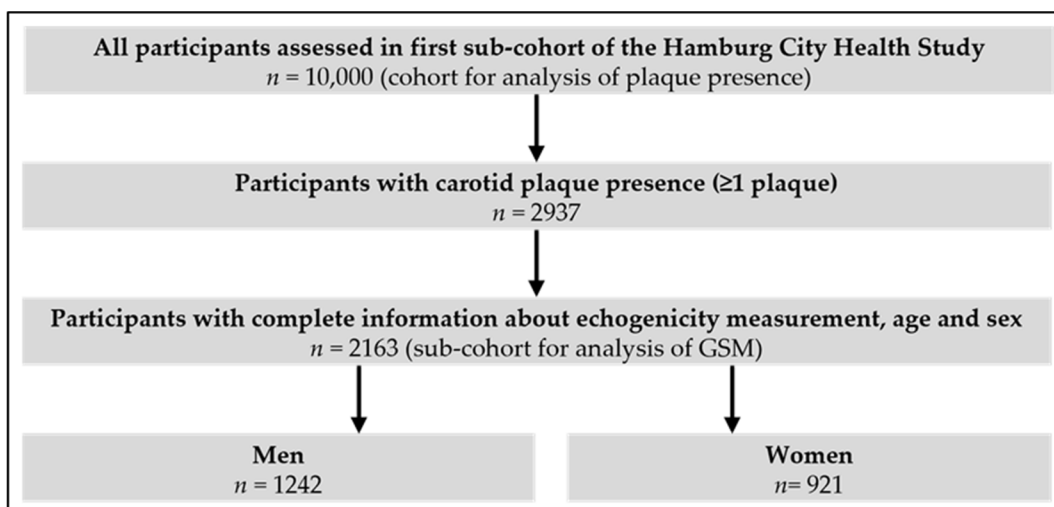


Figure 1. Flow Chart for assessment of echogenicity measurement in participants of HCCHS.

Table 1. Baseline characteristics of the study population of GSM-sub-cohort.

	Overall	Men	Women	p-Value
n (%)	2163 (100)	1242 (57, 4)	921 (42, 6)	
Age in years (median [IQR])	68 (62, 73)	68 (62, 73)	68 (62, 72)	0.44
SES index (median [IQR])	12.30 (9.97, 16.00)	13.30 (10.30, 16.70)	11.40 (9.40, 14.20)	<0.001
NA	1307 (60.4)	653 (52.6)	654 (71)	
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) (%)				<0.001
NA	130 (6.0)	67 (5.4)	63 (6.8)	
Normal weight (BMI 18.5–24.9 kg/m <sup>2</sup> )	677 (31.3)	322 (25.9)	355 (38.5)	
Obesity (BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> )	459 (21.2)	272 (21.9)	187 (20.3)	
Overweight (BMI 25–29.9 kg/m <sup>2</sup> )	883 (40.8)	576 (46.4)	307 (33.3)	
Underweight (BMI < 18.5 kg/m <sup>2</sup> )	14 (0.6)	5 (0.4)	9 (1.0)	
Smoking status (%)	486 (22.5)	282 (22.7)	204 (22.1)	0.697
NA	11 (0.5)	5 (0.4)	6 (0.7)	
Not performing any sports (%)	646 (29.9)	397 (32.0)	249 (27.0)	0.047
NA	180 (8.3)	100 (8.1)	80 (8.7)	
Total energy intake, kcal (median [IQR])	2009.48 (1613.75, 2564.23)	2311.52 (1853.48, 2837.52)	1729.92 (1419.01, 2101.23)	<0.001
NA	242 (11.2)	141 (11.4)	101 (11)	
MEDAS score (%)				<0.001
NA	244 (11.3)	142 (11.4)	102 (11.1)	
0–3 points	576 (26.6)	453 (36.5)	123 (13.4)	
4 points	439 (20.3)	272 (21.9)	167 (18.1)	
5 points	356 (16.5)	175 (14.1)	181 (19.7)	
6+ points	548 (25.3)	200 (16.1)	348 (37.8)	
DASH score (%)				<0.001
NA	244 (11.3)	142 (11.4)	102 (11.1)	
0–3.5 points	489 (22.6)	395 (31.8)	94 (10.2)	
3.6–4.5 points	643 (29.7)	377 (30.4)	266 (28.9)	
4.6–5.0 points	325 (15.0)	152 (12.2)	173 (18.8)	
5.1+ points	462 (21.4)	176 (14.2)	286 (31.1)	
Any supplement intake (%)	755 (34.9)	352 (28.3)	403 (43.8)	<0.001
NA	177 (8.2)	100 (8.1)	77 (8.4)	
Multivitamins (%)	167 (7.7)	96 (7.7)	71 (7.7)	1
Multiminerals (%)	180 (8.3)	78 (6.3)	102 (11.1)	<0.001
Calcium (%)	127 (5.9)	68 (5.5)	59 (6.4)	0.413
Magnesium (%)	382 (17.7)	179 (14.4)	203 (22.0)	<0.001
Vitamin B (%)	110 (5.1)	45 (3.6)	65 (7.1)	<0.001

Table 1. Cont.

	Overall	Men	Women	p-Value
Folate (%)	76 (3.5)	30 (2.4)	46 (5.0)	0.002
Hyperlipidemia (%)	744 (34.4)	498 (40.1)	246 (26.7)	<0.001
NA	100 (4.6)	53 (4.3)	47 (5.1)	
Arterial hypertension (%)	1644 (76.0)	974 (78.4)	670 (72.7)	<0.001
NA	62 (2.9)	44 (3.5)	18 (2.0)	
Diabetes mellitus (%)	256 (11.8)	171 (13.8)	85 (9.2)	0.002
NA	118 (5.5)	59 (4.8)	59 (6.4)	
Prior MI (%)	119 (5.5)	103 (8.3)	16 (1.7)	<0.001
NA	17 (0.8)	10 (0.8)	7 (0.8)	
Heart failure (%)	174 (8.0)	115 (9.3)	59 (6.4)	0.014
NA	20 (0.9)	15 (1.2)	5 (0.5)	
Atrial fibrillation (%)	183 (8.5)	120 (9.7)	63 (6.8)	0.014
NA	199 (9.2)	101 (8.1)	98 (10.6)	
Prior stroke (%)	100 (4.6)	65 (5.2)	35 (3.8)	0.121
NA	17 (0.8)	7 (0.6)	10 (1.1)	
PAD (ABI < 0.9) (%)	255 (11.8)	140 (11.3)	115 (12.5)	0.308
NA	1140 (52.7)	645 (51.9)	495 (53.7)	
GFR (median [IQR])	87.20 (78.40, 93.20)	88.90 (81.20, 94.60)	84.80 (76.30, 90.30)	<0.001
NA	211 (9.8)	105 (8.5)	106 (11.5)	
Lipid-lowering drugs (%)	617 (28.5)	413 (33.3)	204 (22.1)	<0.001
NA	60 (2.8)	39 (3.1)	21 (2.3)	
Antihypertensives (%)	1000 (46.2)	598 (48.1)	402 (43.6)	0.035
NA	60 (2.8)	39 (3.1)	21 (2.3)	
Antidiabetics (%)	171 (7.9)	119 (9.6)	52 (5.6)	0.001
NA	60 (2.8)	39 (3.1)	21 (2.3)	
Antiplatelets (%)	600 (27.7)	409 (32.9)	191 (20.7)	<0.001
NA	60 (2.8)	39 (3.1)	21 (2.3)	

This table shows baseline characteristics related to participants with assessed GSM ( $n = 2163$ ). Abbreviations: IQR, interquartile range; SES, socioeconomic status; NA, not available (missings with respect to line above); BMI, body mass index (calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared); MEDAS, Mediterranean Diet Adherence Score; DASH, Dietary Approach to Stop Hypertension; MI, myocardial infarction; PAD, peripheral artery disease; ABI, ankle-brachial-pressure-Index; GFR, glomerular filtration rate.

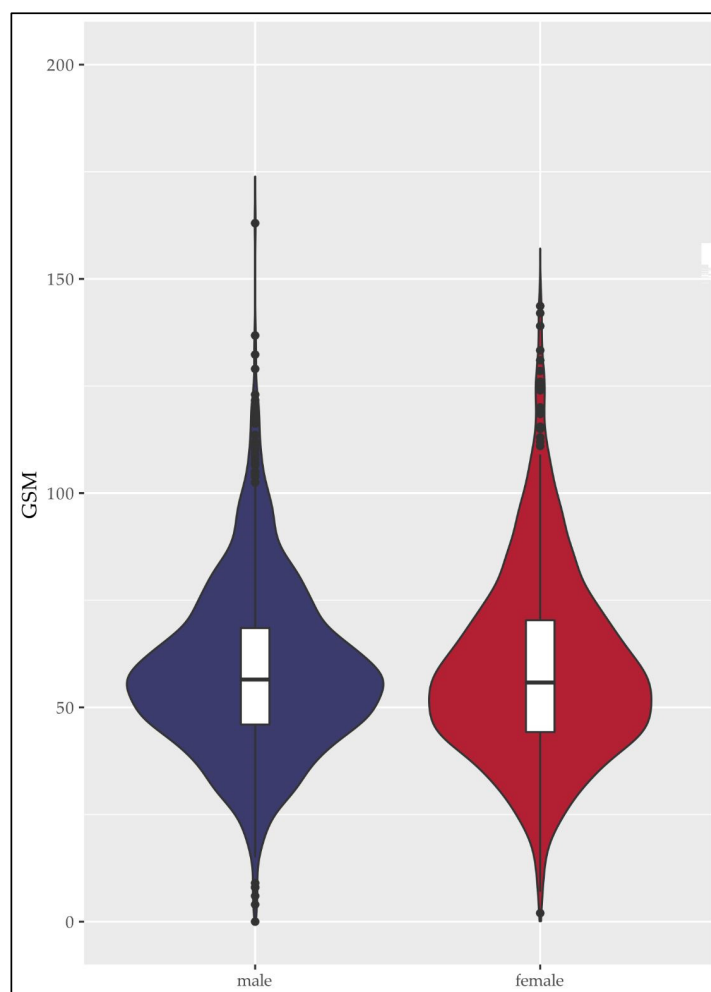
Women reached higher MEDAS scores more often than men; women reached a score of 6+ points in 37.8% of the cases, whereas men reached a score of 6+ points in 16.1%. A similar trend holds true for the DASH score: 31.1% of women and 14.2% of men achieved a score of 5.1+ points. Men reached the largest distribution range at 0–3.5 points (31.8%) and 3.6–4.5 points (30.4%). In comparison, fewer women had low score values.

A total of 755 (34.9%) participants had an intake of any supplement. Intake was higher among women (43.8%) than men (23.8%). As Table 1 shows, for each of the examined supplements, intake was higher in women than in men, with the exception of multivitamins. Here, an equal supplementation distribution of 7.7% each for women and men was assessed.

Figure 2 shows the distribution of GSM levels separately for men (shown in blue) and women (shown in red). The median GSM was 56.50 with IQR between 46.00 and 68.50 for men and 55.80 with IQR between 44.25 and 70.33 for women.

### 3.2. Linear Regression of Nutrition Parameters and Examined Supplements with GSM in Women and Men

Table 2 shows the results of multivariate linear regression models of nutrition parameters, examined supplements and GSM in men and women of the GSM-sub-cohort ( $n = 2163$ ). A significant correlation could only be found for folic acid intake in men (GSM 9.12 (95% CI (1.37, 16.86),  $p = 0.021$ ).



**Figure 2.** Distribution of gray-scale median (GSM) in women (red) and men (blue). *n* = 2163. Abbreviations: GSM, gray-scale median.

**Table 2.** Linear regression models for Outcome GSM (0 to 255) in men and women.

Model Parameters	Men		Women	
	GSM [95% CI] <sup>1</sup>	<i>p</i> -Value	GSM [95% CI] <sup>1</sup>	<i>p</i> -Value
MEDAS 4 points <sup>2</sup>	−0.14 (−3.06, 2.79)	0.927	−2.82 (−7.78, 2.15)	0.267
MEDAS 5 points <sup>2</sup>	−1.10 (−4.45, 2.25)	0.521	−2.02 (−6.78, 2.74)	0.406
MEDAS 6+ points <sup>2</sup>	−1.53 (−4.71, 1.66)	0.347	−1.88 (−6.19, 2.43)	0.393
DASH 3.6–4.5 points <sup>3</sup>	−1.27 (−4.09, 1.55)	0.378	−1.69 (−6.57, 3.19)	0.497
DASH 4.6–5.0 points <sup>3</sup>	−0.95 (−4.66, 2.75)	0.614	−3.76 (−9.06, 1.53)	0.164
DASH 5.1+ points <sup>3</sup>	−1.45 (−4.86, 1.96)	0.406	−0.33 (−5.22, 4.57)	0.896
Any supplement intake <sup>4</sup>	−0.69 (−4.12, 2.74)	0.693	−1.06 (−4.78, 2.67)	0.578
Multivitamins <sup>4</sup>	−2.67 (−7.94, 2.61)	0.322	−2.03 (−8.53, 4.47)	0.540
Multiminerals <sup>4</sup>	1.52 (−4.11, 7.15)	0.597	−0.87 (−6.53, 4.79)	0.763
Calcium <sup>4</sup>	−0.14 (−5.57, 5.29)	0.960	2.57 (−3.61, 8.76)	0.415
Magnesium <sup>4</sup>	−0.01 (−4.20, 4.18)	0.995	−0.19 (−4.43, 4.05)	0.930
Vitamin B <sup>4</sup>	−2.19 (−8.59, 4.21)	0.502	3.93 (−1.93, 9.79)	0.189
Folate <sup>4</sup>	9.12 (1.37, 16.86)	0.021	−2.50 (−9.31, 4.31)	0.472

This table shows results of linear regression models regarding GSM related to participants with assessed GSM presented as betas (*n* = 2163). <sup>1</sup> Model adjusted for: age, socioeconomic status, not doing sport, BMI, smoking status, energy intake (kcal), dyslipidemia, hypertension, diabetes mellitus, myocardial infarction, heart failure, atrial fibrillation, history of stroke or TIA, peripheral arterial disease, eGFR, lipid-lowering drugs, antihypertensive medication, antidiabetic medication, antiplatelets. <sup>2</sup> Reference category: <4 points. <sup>3</sup> Reference category: <3.6 points. <sup>4</sup> Reference category: No supplement intake. Abbreviations: GSM, gray-scale median; CI, confidence interval; MEDAS, Mediterranean Diet Adherence Score; DASH, Dietary Approach to Stop Hypertension; BMI, body-mass-index; TIA, transient ischemic attack; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

A non-significant opposing trend was found in women with GSM of  $-2.50$  (95% CI  $-9.31, 4.31$ ),  $p = 0.472$ . No significant associations could be found between dietary patterns or intake of the other examined supplements and GSM.

### 3.3. Results of Logistic Regression Regarding the Presence of Carotid Plaques

The results of logistic regressions with multivariable adjustments as OR related to the reference category for the presence of at least one carotid plaque in full HCHS-sub-cohort, including 10,000 participants, are shown in Table 3. In all three adjusted logistic regression models, the odds for the presence of at least one carotid plaque were significantly higher among the categories men, older age, low education, arterial hypertension, hyperlipidemia and smoking status (Supplementary Material Table S3).

**Table 3.** Logistic regression models regarding the presence of carotid plaques.

Characteristics	OR (95% CI)	<i>p</i> -Value
High MEDAS vs. medium MEDAS	1.07 (0.92, 1.24)	0.367
Low MEDAS vs. medium MEDAS	0.86 (0.75, 1.00)	0.052
High DASH vs. medium DASH	1.18 (1.02, 1.36)	0.027
Low DASH vs. medium DASH	0.95 (0.82, 1.10)	0.469
Supplement intake yes vs. no	0.96 (0.85, 1.08)	0.490

This table shows results of additional analyses of logistic regression models regarding the presence of carotid plaques in full HCHS-sub-cohort, including 10,000 participants. All models are adjusted for age, sex, education, body-mass index, diabetes mellitus, arterial hypertension, hyperlipidemia, smoking status, heart failure, atrial fibrillation, myocardial infarction, stroke and sports. Abbreviations: OR, odds ratio; CI, confidence interval; MEDAS, Mediterranean Diet Adherence Score; DASH, Dietary Approach to Stop Hypertension.

A high DASH score showed significantly increased odds for the presence of at least one plaque compared to intermediate score values in adjusted models (OR = 1.18, 95% CI (1.02, 1.36),  $p = 0.027$ ).

In adjusted models, no significant association between MEDAS or any supplement intake and the presence of carotid plaque was found.

## 4. Discussion

GSM was not associated with Mediterranean or DASH nutritional patterns and most supplements in an elderly German population. Folic acid intake was significantly associated with higher GSM only in men. A high DASH score was significantly associated with increased odds for the presence of carotid plaques compared to intermediate score values. However, in all other fully adjusted analyses, no significant associations were found between DASH/Mediterranean diet and plaque presence.

This study is the first to investigate associations between GSM and the Mediterranean Diet or DASH diet as well as the supplements examined in this study, plus the relation between the presence of carotid plaques with the DASH diet or supplement intake. There are only a few studies that have investigated plaque prevalence and MEDAS.

The study's baseline data fit with the demographics of previous studies, which have also shown that both following healthy dietary patterns—measured by high adherence scores—and taking supplements are more prevalent among women [35–37,49,53,69,70].

The significantly increased GSM in men taking folic acid should be considered with caution because only 30 men (2.4%) supplemented folic acid. Future studies should investigate the effect of folic acid on plaque vulnerability. In addition to that, the clinical implication should be mentioned. If the observed evidence of a 9.12 increased GSM by folic acid intake (95% CI (1.37, 16.86),  $p = 0.021$ ) is not coincidental, this positive effect, however, is not necessarily clinically relevant. However, three reviews revealed a reduced stroke risk for folic acid supplementation and, thus, beneficial effects for stroke prevention [57–59]. Again, further studies are necessary to determine which GSM changes are clinically relevant to outcomes related to CVD, e.g., ischemic stroke. Thus, the findings probably exist due to

confounders like traditional cardiovascular risk factors considering that supplement users tend to have more healthy habits than non-users [55].

Several studies have shown that the presence of carotid plaques is particularly associated with older age, male sex [71] and smoking [72], but also linked to diseases such as hypercholesterolemia [31], hypertension, diabetes mellitus [73,74] and cardiac disease [75]. Our findings are in line with previous studies that revealed the following associations: In adjusted regression models, the odds of having at least one plaque significantly increased in men, older age, low education, arterial hypertension, hyperlipidemia and smoking status. Evidence for correlations between supplement intake or DASH diet with plaque presence is missing in the existing literature. For any supplement intake, the odds of carotid plaque presence were lower, although no significant trend was observed after adjustment.

Contrary to our expectations, we have found a significant association between high DASH scores and a more frequent occurrence of carotid plaques in adjusted models. In contrast, Fung et al. showed that adherence to the DASH diet is associated with a reduced risk of CVD events such as stroke [46]. The reason for our findings could be that people having cardiovascular diseases are more willing to follow healthy nutrition recommendations. Likewise, individuals who have received nutritional counseling cause of their CVD are more likely to report healthy nutrition in questionnaires (recall/reporting bias).

We found an absence of proof regarding the association between MEDAS or supplement intake and the presence of carotid plaque. Previous studies confirm that there may be no association between MEDAS and the presence of carotid plaques. For example, neither Gardener et al. in the Northern Manhattan Study (NOMAS) [38] nor Mateo-Gallego et al. in the Aragon Workers' Health Study (AWHS) [41] observed an association between the Mediterranean diet and plaque presence. Jimenez-Torres et al. also did not find any effect of the Mediterranean diet on the number of carotid plaques [39]. In contrast, a Croatian study in a population of HIV-infected patients found that lower adherence to the Mediterranean diet was associated with increased odds of subclinical atherosclerosis defined as  $\text{cIMT} \geq 0.9$  mm or  $\geq 1$  carotid plaque [76].

Although no clinically relevant association between the Mediterranean/DASH diet or supplement intake and GSM has been found, some studies have shown associations between these lifestyle adjustments and the CVD predictor cIMT. For example, Maddock et al. describe significantly lower cIMT for greater adherence to the DASH diet [35].

Because GSM and cIMT may be associated with different risk factors [26,27] and represent different aspects of atherosclerosis [28], it is worth doubting whether GSM is an appropriate parameter for detecting associations with dietary adjustments. Perhaps other methods are more useful for investigating associations and, finally, causal influences on clinical outcomes related to diet or supplements. For example, using a juxtaluminal black area (JBA) instead of GSM could provide even more information [22]. While the GSM value is based on the echolucency measurement of the whole plaque, JBA focuses on a low GSM plaque area near the vessel lumen. Salem et al. found a stronger association between histological findings and JBA than with GSM [21].

In summary, further research regarding the relationship between GSM and the presence of carotid artery plaques with nutrition patterns or supplement intake is needed.

#### *Strengths and Limitations*

The present study consists of an exceptionally large sample size of 2163 participants within the GSM-sub-cohort and 10,000 participants in an additional analysis with the presence of at least one plaque. Almost no exclusion criteria (only insufficient German language skills and incapability to travel to the study center and to cooperate in the investigations) and random invitations via the registration office are used for the selection of study participants for HCHS. Still, selection bias cannot be excluded for certain. HCHS participants tend to be more health-conscious and educated, showing fewer cardiovascular risk factors than the general German population [77]. Furthermore, the HCHS study population consists of middle-aged individuals living in Hamburg, so generalizations to

other age groups and individuals living in rural areas should not be made without careful consideration.

Being a cross-sectional analysis, no causal conclusions can be made. Data on dietary parameters were collected by self-reporting in questionnaires, so there is a risk of reporting and recall bias. In addition, no data were collected on the dose of the supplements nor on the continuity or duration of intake.

Furthermore, adjustments for multiple comparisons were not performed. This could lead to dismissing the null hypothesis hastily, especially in consideration of the wide variety of supplements.

Another limitation could be our grouping of the dietary scores in the GSM regression models (MEDAS 4/5/6+ points, DASH 3.6–4.5, 4.6–5, 5.1+) since differences in adherence between the groups are small. Comparison of, for instance, the highest tertial of adherence vs. the lowest tertial of adherence might have been more informative. In addition, adherence to the Mediterranean diet was low in our northern German participants. Another dietary pattern, e.g., an anti-inflammatory or Nordic diet, could have shown higher prevalence rates and thus more information.

Additionally, in the present study, GSM measurement was performed based on 2D ultrasound scans and thus cannot present information on the whole plaque as 3D files may have done.

Lastly, multiple trained operators drew in the plaques for the GSM determination. This leaves room for intra-observer and inter-observer variability. Plus, the reference values for normalization of the image brightness also had to be drawn in. This can lead to a bias in true GSM values if, for instance, an expert draws in an area that is too dark for the adventitia, the normalization thus becoming incorrect [78].

## 5. Conclusions

The current study found no clinically relevant significant associations between adherence to the DASH/Mediterranean diet or supplement intake and the GSM of carotid plaques. There may be an association between higher GSM and folate intake in men, but further studies are needed to confirm this association and clinical relevance.

High compared to intermediate adherence to the DASH diet was associated with higher odds for carotid plaque presence.

Further research is needed to examine whether nutrition patterns or supplement intake—particularly DASH diet and folate intake—are associated with plaque presence or GSM.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu15061468/s1>, regarding the criteria for Mediterranean Dietary Score (Table S1) and scoring system for Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet (Table S2) and additional results from logistic regression models regarding the presence of carotid plaques (Table S3).

**Author Contributions:** J.M.A. collected data, worked on methodology, conceptualized the paper, wrote the original draft, developed the discussion part, reviewed and edited the paper; M.D.S. collected data, worked on methodology, conceptualized the paper, wrote the original draft, developed the discussion part, reviewed and edited the paper; F.P. analyzed data statistically, worked on visualization, reviewed and edited the paper, C.-A.B. administrated and supervised this study, reviewed and edited the paper; S.B. acted as the expert from the cardiological field, contributed to the discussion part and supervised the paper as PI of the HCHS; D.L.R. controlled the quality of assessed data, contributed to the discussion, reviewed and edited the paper; G.T. controlled the quality of assessed data, contributed to the discussion, reviewed and edited the paper; A.J. was responsible for the data management and administration, quality control, reviewed and edited the paper; E.L.P. analyzed data statistically, worked on visualization, reviewed and edited the paper; I.S. was responsible for the data management and administration, reviewed and edited the paper; R.T. acted as the expert from the cardiological field, contributed to the discussion part, reviewed and edited the paper; N.M. curated data: developed statistical analysis plan for this manuscript,

administrated and supervised this study, worked on discussion, reviewed and edited the paper; B.-C.Z. developed methods concerning the nutritional part of this study, administrated and supervised this study and reviewed and edited the paper. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The local ethics committee of the Landesärztekammer Hamburg (State of Hamburg Chamber of Medical Practitioners, PV5131) was consulted, and its approval for the study protocol as well as the approval by the Data Protection Commissioner of the University Medical Center of the University Hamburg-Eppendorf and the Data Protection Commissioner of the Free and Hanseatic City of Hamburg were obtained. The study has been registered at <https://clinicaltrials.gov/> (NCT03934957). The procedures set out in this study, pertaining to the conduct, evaluation, and documentation, are designed to ensure that all persons involved in the study abide by Good Clinical Practice (GCP), Good Epidemiological Practice (GEP), and the ethical principles described in the current revision of the Declaration of Helsinki. The study will be carried out in keeping with local legal and regulatory requirements. The requirements of the GCP and GEP regulation will be adhered to. In order to be admitted to HCHS, all participants are to consent to participate only after the nature and scope of the study have been explained to and understood by them. Written informed consent is obtained from all participants. The examinations were chosen because of the non-invasive nature of acquisition and standardized testing to assess intermediate phenotypes of the different diseases.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the Hamburg City Health Study.

**Data Availability Statement:** Data for this study as well as statistical analyses and R code are available for purposes of review, transparency and comprehensibility.

**Acknowledgments:** The authors acknowledge the participants of the Hamburg City Health Study, the staff at the Epidemiological Study Center, the Hamburg City Health Study research consortium and steering board committee, as well as its cooperation partners and patrons.

**Conflicts of Interest:** S.B. reports institution funding from Bayer, Siemens, Novartis, and the City of Hamburg.

## References

1. Kim, M.J.; Jung, S.K. Nutraceuticals for prevention of atherosclerosis: Targeting monocyte infiltration to the vascular endothelium. *J. Food Biochem.* **2020**, *44*, e13200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Torres, N.; Guevara-Cruz, M.; Velázquez-Villegas, L.A.; Tovar, A.R. Nutrition and Atherosclerosis. *Arch. Med. Res.* **2015**, *46*, 408–426. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Badimon, L.; Vilahur, G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *J. Intern. Med.* **2014**, *276*, 618–632. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Penson, P.E.; Banach, M. The Role of Nutraceuticals in the Optimization of Lipid-Lowering Therapy in High-Risk Patients with Dyslipidaemia. *Curr. Atheroscler. Rep.* **2020**, *22*, 67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Scheen, A.J. From atherosclerosis to atherothrombosis: From a silent chronic pathology to an acute critical event. *Rev. Med. Liege* **2018**, *73*, 224–228.
6. Saba, L.; Sanagala, S.S.; Gupta, S.K.; Koppula, V.K.; Johri, A.M.; Sharma, A.M.; Kolluri, R.; Bhatt, D.L.; Nicolaidis, A.; Suri, J.S. Ultrasound-based internal carotid artery plaque characterization using deep learning paradigm on a supercomputer: A cardiovascular disease/stroke risk assessment system. *Int. J. Cardiovasc. Imaging* **2021**, *37*, 1511–1528. [[CrossRef](#)]
7. Baud, J.M.; Stanciu, D.; Yeung, J.; Maurizot, A.; Chabay, S.; de Malherbe, M.; Chadenat, M.L.; Bachelet, D.; Pico, F. Contrast enhanced ultrasound of carotid plaque in acute ischemic stroke (CUSCAS study). *Rev. Neurol.* **2021**, *177*, 115–123. [[CrossRef](#)]
8. Flaherty, M.L.; Kissela, B.; Khoury, J.C.; Alwell, K.; Moomaw, C.J.; Woo, D.; Khatri, P.; Ferioli, S.; Adeoye, O.; Broderick, J.P.; et al. Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology* **2013**, *40*, 36–41. [[CrossRef](#)]
9. Gong, H.Y.; Shi, X.K.; Zhu, H.Q.; Chen, X.Z.; Zhu, J.; Zhao, B.W. Evaluation of carotid atherosclerosis and related risk factors using ultrasonic B-Flow technology in elderly patients. *J. Int. Med. Res.* **2020**, *48*, 300060520961224. [[CrossRef](#)]
10. Spanos, K.; Tzorbatzoglou, I.; Lazari, P.; Maras, D.; Giannoukas, A.D. Carotid artery plaque echomorphology and its association with histopathologic characteristics. *J. Vasc. Surg.* **2018**, *68*, 1772–1780. [[CrossRef](#)]
11. Karim, R.; Xu, W.; Kono, N.; Li, Y.; Yan, M.; Stanczyk, F.Z.; Hodis, H.N.; Mack, W.J. Comparison of Cardiovascular Disease Risk Factors Between 2 Subclinical Atherosclerosis Measures in Healthy Postmenopausal Women: Carotid Artery Wall Thickness and Echogenicity: Carotid Artery Wall Thickness and Echogenicity. *J. Ultrasound Med.* **2022**, *42*, 35–44. [[CrossRef](#)]

12. Lorenz, M.W.; Markus, H.S.; Bots, M.L.; Rosvall, M.; Sitzer, M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis. *Circulation* **2007**, *115*, 459–467. [[CrossRef](#)]
13. Willeit, P.; Tschiderer, L.; Allara, E.; Reuber, K.; Seekircher, L.; Gao, L.; Liao, X.; Lonn, E.; Gerstein, H.C.; Yusuf, S.; et al. Carotid Intima-Media Thickness Progression as Surrogate Marker for Cardiovascular Risk: Meta-Analysis of 119 Clinical Trials Involving 100,667 Patients. *Circulation* **2020**, *142*, 621–642. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Della-Morte, D.; Dong, C.; Crisby, M.; Gardener, H.; Cabral, D.; Elkind, M.S.V.; Gutierrez, J.; Sacco, R.L.; Rundek, T. Association of Carotid Plaque Morphology and Glycemic and Lipid Parameters in the Northern Manhattan Study. *Front. Cardiovasc. Med.* **2022**, *9*, 793755. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Naylor, R.; Rantner, B.; Ancetti, S.; de Borst, G.J.; De Carlo, M.; Halliday, A.; Kakkos, S.K.; Markus, H.S.; McCabe, D.J.H.; Sillesen, H.; et al. European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2023 Clinical Practice Guidelines on the Management of Atherosclerotic Carotid and Vertebral Artery Disease. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* **2022**, *65*, 7–111. [[CrossRef](#)]
16. Kadoglou, N.P.E.; Moulakakis, K.G.; Mantas, G.; Kakisis, J.D.; Mylonas, S.N.; Valsami, G.; Liapis, C.D. The Association of Arterial Stiffness With Significant Carotid Atherosclerosis and Carotid Plaque Vulnerability. *Angiology* **2022**, *73*, 668–674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Li, Y.; Kwong, D.L.; Wu, V.W.; Yip, S.P.; Law, H.K.; Lee, S.W.; Ying, M.T. Computer-assisted ultrasound assessment of plaque characteristics in radiation-induced and non-radiation-induced carotid atherosclerosis. *Quant. Imaging Med. Surg.* **2021**, *11*, 2292–2306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Doonan, R.J.; Gorgui, J.; Veinot, J.P.; Lai, C.; Kyriacou, E.; Corriveau, M.M.; Steinmetz, O.K.; Daskalopoulou, S.S. Plaque echodensity and textural features are associated with histologic carotid plaque instability. *J. Vasc. Surg.* **2016**, *64*, 671–677. [[CrossRef](#)]
19. Grogan, J.K.; Shaalan, W.E.; Cheng, H.; Gewertz, B.; Desai, T.; Schwarze, G.; Glagov, S.; Lozanski, L.; Griffin, A.; Castilla, M.; et al. B-mode ultrasonographic characterization of carotid atherosclerotic plaques in symptomatic and asymptomatic patients. *J. Vasc. Surg.* **2005**, *42*, 435–441. [[CrossRef](#)]
20. Mitchell, C.C.; Stein, J.H.; Cook, T.D.; Salamat, S.; Wang, X.; Varghese, T.; Jackson, D.C.; Sandoval Garcia, C.; Wilbrand, S.M.; Dempsey, R.J. Histopathologic Validation of Grayscale Carotid Plaque Characteristics Related to Plaque Vulnerability. *Ultrasound Med. Biol.* **2017**, *43*, 129–137. [[CrossRef](#)]
21. Salem, M.K.; Bown, M.J.; Sayers, R.D.; West, K.; Moore, D.; Nicolaidis, A.; Robinson, T.G.; Naylor, A.R. Identification of patients with a histologically unstable carotid plaque using ultrasonic plaque image analysis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* **2014**, *48*, 118–125. [[CrossRef](#)]
22. Sztajzel, R.; Momjian, S.; Momjian-Mayor, I.; Murith, N.; Djebaili, K.; Boissard, G.; Comelli, M.; Pizolatto, G. Stratified gray-scale median analysis and color mapping of the carotid plaque: Correlation with endarterectomy specimen histology of 28 patients. *Stroke* **2005**, *36*, 741–745. [[CrossRef](#)]
23. Ariyoshi, K.; Okuya, S.; Kunitsugu, I.; Matsunaga, K.; Nagao, Y.; Nomiyama, R.; Takeda, K.; Tanizawa, Y. Ultrasound analysis of gray-scale median value of carotid plaques is a useful reference index for cerebro-cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *J. Diabetes Investig.* **2015**, *6*, 91–97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. el-Barghouty, N.; Nicolaidis, A.; Bahal, V.; Geroulakos, G.; Androulakis, A. The identification of the high risk carotid plaque. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* **1996**, *11*, 470–478. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Nicolaidis, A.N.; Kakkos, S.K.; Kyriacou, E.; Griffin, M.; Sabetai, M.; Thomas, D.J.; Tegos, T.; Geroulakos, G.; Labropoulos, N.; Doré, C.J.; et al. Asymptomatic internal carotid artery stenosis and cerebrovascular risk stratification. *J. Vasc. Surg.* **2010**, *52*, 1481–1485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Andersson, J.; Sundstrom, J.; Gustavsson, T.; Hulthe, J.; Elmgren, A.; Zilmer, K.; Zilmer, M.; Lind, L. Echogenicity of the carotid intima-media complex is related to cardiovascular risk factors, dyslipidemia, oxidative stress and inflammation: The Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) study. *Atherosclerosis* **2009**, *204*, 612–618. [[CrossRef](#)]
27. Jung, M.; Parrinello, C.M.; Xue, X.; Mack, W.J.; Anastos, K.; Lazar, J.M.; Selzer, R.H.; Shircore, A.M.; Plankey, M.; Tien, P.; et al. Echolucency of the carotid artery intima-media complex and intima-media thickness have different cardiovascular risk factor relationships: The Women’s Interagency HIV Study. *J. Am. Heart Assoc.* **2015**, *4*, e001405. [[CrossRef](#)]
28. Spence, J.D. Technology Insight: Ultrasound measurement of carotid plaque—patient management, genetic research, and therapy evaluation. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **2006**, *2*, 611–619. [[CrossRef](#)]
29. Gepner, A.D.; Young, R.; Delaney, J.A.; Budoff, M.J.; Polak, J.F.; Blaha, M.J.; Post, W.S.; Michos, E.D.; Kaufman, J.; Stein, J.H. Comparison of Carotid Plaque Score and Coronary Artery Calcium Score for Predicting Cardiovascular Disease Events: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J. Am. Heart Assoc.* **2017**, *6*, e005179. [[CrossRef](#)]
30. Hollander, M.; Bots, M.L.; Del Sol, A.L.; Koudstaal, P.J.; Wittman, J.C.; Grobbee, D.E.; Hofman, A.; Breteler, M.M. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly: The Rotterdam study. *Circulation* **2002**, *105*, 2872–2877. [[CrossRef](#)]
31. Vilanova, M.B.; Franch-Nadal, J.; Falguera, M.; Marsal, J.R.; Canivell, S.; Rubinat, E.; Miró, N.; Molló, À.; Mata-Cases, M.; Gratacòs, M.; et al. Prediabetes Is Independently Associated with Subclinical Carotid Atherosclerosis: An Observational Study in a Non-Urban Mediterranean Population. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 2139. [[CrossRef](#)]

32. Wang, C.; Fang, X.; Wu, X.; Hua, Y.; Zhang, Z.; Gu, X.; Tang, Z.; Guan, S.; Liu, H.; Liu, B.; et al. Metabolic syndrome and risks of carotid atherosclerosis and cardiovascular events in community-based older adults in China. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **2019**, *28*, 870–878. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Munjral, S.; Ahluwalia, P.; Jamthikar, A.D.; Puvvula, A.; Saba, L.; Faa, G.; Singh, I.M.; Chadha, P.S.; Turk, M.; Johri, A.M.; et al. Nutrition, atherosclerosis, arterial imaging, cardiovascular risk stratification, and manifestations in COVID-19 framework: A narrative review. *Front. Biosci.* **2021**, *26*, 1312–1339. [[CrossRef](#)]
34. McClintock, T.R.; Parvez, F.; Wu, F.; Islam, T.; Ahmed, A.; Rani Paul, R.; Shaheen, I.; Sarwar, G.; Rundek, T.; Demmer, R.T.; et al. Major dietary patterns and carotid intima-media thickness in Bangladesh. *Public. Health Nutr.* **2016**, *19*, 218–229. [[CrossRef](#)]
35. Maddock, J.; Ziauddeen, N.; Ambrosini, G.L.; Wong, A.; Hardy, R.; Ray, S. Adherence to a Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-type diet over the life course and associated vascular function: A study based on the MRC 1946 British birth cohort. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 581–589. [[CrossRef](#)]
36. Gómez-Sánchez, M.; Gómez Sánchez, L.; Patino-Alonso, M.C.; Alonso-Domínguez, R.; Sánchez-Aguadero, N.; Lugones-Sánchez, C.; Rodríguez Sánchez, E.; García Ortiz, L.; Gómez-Marcos, M.A. Adherence to the Mediterranean Diet in Spanish Population and Its Relationship with Early Vascular Aging according to Sex and Age: EVA Study. *Nutrients* **2020**, *12*, 1025. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Koutsonida, M.; Kanellopoulou, A.; Markozannes, G.; Gousia, S.; Doulmas, M.T.; Sigounas, D.E.; Tzouvaras, V.T.; Vakalis, K.; Tzoulaki, I.; Evangelou, E.; et al. Adherence to Mediterranean Diet and Cognitive Abilities in the Greek Cohort of Epirus Health Study. *Nutrients* **2021**, *13*, 3363. [[CrossRef](#)]
38. Gardener, H.; Wright, C.B.; Cabral, D.; Scarmeas, N.; Gu, Y.; Cheung, K.; Elkind, M.S.; Sacco, R.L.; Rundek, T. Mediterranean diet and carotid atherosclerosis in the Northern Manhattan Study. *Atherosclerosis* **2014**, *234*, 303–310. [[CrossRef](#)]
39. Jimenez-Torres, J.; Alcalá-Díaz, J.F.; Torres-Pena, J.D.; Gutierrez-Mariscal, F.M.; Leon-Acuna, A.; Gomez-Luna, P.; Fernandez-Gandara, C.; Quintana-Navarro, G.M.; Fernandez-Garcia, J.C.; Perez-Martinez, P.; et al. Mediterranean Diet Reduces Atherosclerosis Progression in Coronary Heart Disease: An Analysis of the CORDIOPREV Randomized Controlled Trial. *Stroke* **2021**, *52*, 3440–3449. [[CrossRef](#)]
40. Martínez-González, M.A.; Salas-Salvado, J.; Estruch, R.; Corella, D.; Fito, M.; Ros, E.; Predimed, I. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2015**, *58*, 50–60. [[CrossRef](#)]
41. Mateo-Gallego, R.; Uzhova, I.; Moreno-Franco, B.; Leon-Latre, M.; Casasnovas, J.A.; Laclaustra, M.; Penalvo, J.L.; Civeira, F. Adherence to a Mediterranean diet is associated with the presence and extension of atherosclerotic plaques in middle-aged asymptomatic adults: The Aragon Workers' Health Study. *J. Clin. Lipidol.* **2017**, *11*, 1372–1382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Penalvo, J.L.; Fernandez-Friera, L.; Lopez-Melgar, B.; Uzhova, I.; Oliva, B.; Fernandez-Alvira, J.M.; Laclaustra, M.; Pocock, S.; Mocorroa, A.; Mendiguren, J.M.; et al. Association Between a Social-Business Eating Pattern and Early Asymptomatic Atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2016**, *68*, 805–814. [[CrossRef](#)]
43. Petersen, K.S.; Clifton, P.M.; Keogh, J.B. The association between carotid intima media thickness and individual dietary components and patterns. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2014**, *24*, 495–502. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Sala-Vila, A.; Romero-Mamani, E.S.; Gilabert, R.; Nunez, I.; de la Torre, R.; Corella, D.; Ruiz-Gutierrez, V.; Lopez-Sabater, M.C.; Pinto, X.; Rekondo, J.; et al. Changes in ultrasound-assessed carotid intima-media thickness and plaque with a Mediterranean diet: A substudy of the PREDIMED trial. *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* **2014**, *34*, 439–445. [[CrossRef](#)]
45. Bhat, S.; Mocciaro, G.; Ray, S. The association of dietary patterns and carotid intima-media thickness: A synthesis of current evidence. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2019**, *29*, 1273–1287. [[CrossRef](#)]
46. Fung, T.T.; Chiuve, S.E.; McCullough, M.L.; Rexrode, K.M.; Logroscino, G.; Hu, F.B. Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in women. *Arch. Intern. Med.* **2008**, *168*, 713–720. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Levitan, E.B.; Wolk, A.; Mittleman, M.A. Consistency with the DASH diet and incidence of heart failure. *Arch. Intern. Med.* **2009**, *169*, 851–857. [[CrossRef](#)]
48. Rautiainen, S.; Manson, J.E.; Lichtenstein, A.H.; Sesso, H.D. Dietary supplements and disease prevention—A global overview. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2016**, *12*, 407–420. [[CrossRef](#)]
49. Rontogianni, M.O.; Kanellopoulou, A.; Markozannes, G.; Bouras, E.; Derdemezis, C.; Doulmas, M.T.; Sigounas, D.E.; Tzouvaras, V.T.; Vakalis, K.; Panagiotakos, D.B.; et al. Prevalence and Determinants of Sex-Specific Dietary Supplement Use in a Greek Cohort. *Nutrients* **2021**, *13*, 2857. [[CrossRef](#)]
50. Chen, F.; Du, M.; Blumberg, J.B.; Ho Chui, K.K.; Ruan, M.; Rogers, G.; Shan, Z.; Zeng, L.; Zhang, F.F. Association Among Dietary Supplement Use, Nutrient Intake, and Mortality Among U.S. Adults: A Cohort Study. *Ann. Intern. Med.* **2019**, *170*, 604–613. [[CrossRef](#)]
51. Li, K.; Kaaks, R.; Linseisen, J.; Rohrmann, S. Vitamin/mineral supplementation and cancer, cardiovascular, and all-cause mortality in a German prospective cohort (EPIC-Heidelberg). *Eur. J. Nutr.* **2012**, *51*, 407–413. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Marques-Vidal, P.; Pécoud, A.; Hayoz, D.; Paccaud, F.; Mooser, V.; Waeber, G.; Vollenweider, P. Prevalence and characteristics of vitamin or dietary supplement users in Lausanne, Switzerland: The CoLaus study. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63*, 273–281. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Rock, C.L. Multivitamin-multimineral supplements: Who uses them? *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *85*, 277s–279s. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Schwarzpaul, S.; Strassburg, A.; Luhrmann, P.M.; Neuhauser-Berthold, M. Intake of vitamin and mineral supplements in an elderly German population. *Ann. Nutr. Metab.* **2006**, *50*, 155–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

55. Dickinson, A.; Blatman, J.; El-Dash, N.; Franco, J.C. Consumer usage and reasons for using dietary supplements: Report of a series of surveys. *J. Am. Coll. Nutr.* **2014**, *33*, 176–182. [[CrossRef](#)]
56. Jenkins, D.J.A.; Spence, J.D.; Giovannucci, E.L.; Kim, Y.I.; Josse, R.G.; Vieth, R.; Sahye-Pudaruth, S.; Paquette, M.; Patel, D.; Blanco Mejia, S.; et al. Supplemental Vitamins and Minerals for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: JACC Focus Seminar. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2021**, *77*, 423–436. [[CrossRef](#)]
57. Li, Y.; Huang, T.; Zheng, Y.; Muka, T.; Troup, J.; Hu, F.B. Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J. Am. Heart Assoc.* **2016**, *5*, e003768. [[CrossRef](#)]
58. Khan, S.U.; Khan, M.U.; Riaz, H.; Valavoor, S.; Zhao, D.; Vaughan, L.; Okunrintemi, V.; Riaz, I.B.; Khan, M.S.; Kaluski, E.; et al. Effects of Nutritional Supplements and Dietary Interventions on Cardiovascular Outcomes: An Umbrella Review and Evidence Map. *Ann. Intern. Med.* **2019**, *171*, 190–198. [[CrossRef](#)]
59. Tian, T.; Yang, K.Q.; Cui, J.G.; Zhou, L.L.; Zhou, X.L. Folic Acid Supplementation for Stroke Prevention in Patients with Cardiovascular Disease. *Am. J. Med. Sci.* **2017**, *354*, 379–387. [[CrossRef](#)]
60. Jagodzinski, A.; Johansen, C.; Koch-Gromus, U.; Aarabi, G.; Adam, G.; Anders, S.; Augustin, M.; der Kellen, R.B.; Beikler, T.; Behrendt, C.A.; et al. Rationale and Design of the Hamburg City Health Study. *Eur. J. Epidemiol.* **2020**, *35*, 169–181. [[CrossRef](#)]
61. Mathiesen, E.B.; Bonaa, K.H.; Joakimsen, O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: The tromso study. *Circulation* **2001**, *103*, 2171–2175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Odhner, I. JS Paint [software]. Available online: <https://github.com/1j01/jspaint> (accessed on 15 March 2023).
63. Petroudi, S. Segmentation of the common carotid intima-media complex in ultrasound images using active contours. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **2012**, *59*, 3060–3069. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Nothlings, U.; Hoffmann, K.; Bergmann, M.M.; Boeing, H. Fitting portion sizes in a self-administered food frequency questionnaire. *J. Nutr.* **2007**, *137*, 2781–2786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Hebestreit, K.; Yahiaoui-Doktor, M.; Engel, C.; Vetter, W.; Siniatchkin, M.; Erickson, N.; Halle, M.; Kiechle, M.; Bischoff, S.C. Validation of the German version of the Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS) questionnaire. *BMC Cancer* **2017**, *17*, 341. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Folsom, A.R.; Parker, E.D.; Harnack, L.J. Degree of concordance with DASH diet guidelines and incidence of hypertension and fatal cardiovascular disease. *Am. J. Hypertens.* **2007**, *20*, 225–232. [[CrossRef](#)]
67. van Buuren, S.; Groothuis-Oudshoorn, C. MICE: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *J. Stat. Softw.* **2011**, *45*, 1–67. [[CrossRef](#)]
68. von Elm, E.; Altman, D.G.; Egger, M.; Pocock, S.J.; Gøtzsche, P.C.; Vandenbroucke, J.P.; Initiative, S. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for reporting observational studies. *Int. J. Surg.* **2014**, *12*, 1495–1499. [[CrossRef](#)]
69. Li, K.; Kaaks, R.; Linseisen, J.; Rohrmann, S. Consistency of vitamin and/or mineral supplement use and demographic, lifestyle and health-status predictors: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heidelberg cohort. *Br. J. Nutr.* **2010**, *104*, 1058–1064. [[CrossRef](#)]
70. Oliván-Blázquez, B.; Aguilar-Latorre, A.; Motrico, E.; Gómez-Gómez, I.; Zabaleta-Del-Olmo, E.; Couso-Viana, S.; Clavería, A.; Maderuelo-Fernandez, J.A.; Recio-Rodríguez, J.I.; Moreno-Peral, P.; et al. The Relationship between Adherence to the Mediterranean Diet, Intake of Specific Foods and Depression in an Adult Population (45–75 Years) in Primary Health Care. A Cross-Sectional Descriptive Study. *Nutrients* **2021**, *13*, 2724. [[CrossRef](#)]
71. Catalan, M.; Herreras, Z.; Pinyol, M.; Sala-Vila, A.; Amor, A.J.; de Groot, E.; Gilabert, R.; Ros, E.; Ortega, E. Prevalence by sex of preclinical carotid atherosclerosis in newly diagnosed type 2 diabetes. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2015**, *25*, 742–748. [[CrossRef](#)]
72. de Kreutzenberg, S.V.; Coracina, A.; Volpi, A.; Fadini, G.P.; Frigo, A.C.; Guarneri, G.; Tiengo, A.; Avogaro, A. Microangiopathy is independently associated with presence, severity and composition of carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2011**, *21*, 286–293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Harari, F.; Barregard, L.; Östling, G.; Sallsten, G.; Hedblad, B.; Forsgard, N.; Borné, Y.; Fagerberg, B.; Engström, G. Blood Lead Levels and Risk of Atherosclerosis in the Carotid Artery: Results from a Swedish Cohort. *Environ. Health Perspect.* **2019**, *127*, 127002. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Li, C.; Engström, G.; Berglund, G.; Janzon, L.; Hedblad, B. Incidence of ischemic stroke in relation to asymptomatic carotid artery atherosclerosis in subjects with normal blood pressure. A prospective cohort study. *Cereb. Dis.* **2008**, *26*, 297–303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Rundek, T.; Arif, H.; Boden-Albala, B.; Elkind, M.S.; Paik, M.C.; Sacco, R.L. Carotid plaque, a subclinical precursor of vascular events: The Northern Manhattan Study. *Neurology* **2008**, *70*, 1200–1207. [[CrossRef](#)]
76. Višković, K.; Rutherford, G.W.; Sudario, G.; Stemberger, L.; Brnić, Z.; Begovac, J. Ultrasound measurements of carotid intima-media thickness and plaque in HIV-infected patients on the Mediterranean diet. *Croat. Med. J.* **2013**, *54*, 330–338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

77. Terschuren, C.; Damerau, L.; Petersen, E.L.; Harth, V.; Augustin, M.; Zyriax, B.C. Association of Dietary Pattern, Lifestyle and Chronotype with Metabolic Syndrome in Elderly—Lessons from the Population-Based Hamburg City Health Study. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *19*, 377. [[CrossRef](#)]
78. Spahl, L. Automatische Dichtebestimmung von Plaques in der Arteria carotis. In *Projektpraktikumsbericht im Rahmen des Studienganges Medizinische Informatik der Universität zu Lübeck durchgeführt*; Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf: Hamburg, Germany, 2019.

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## 2. Darstellung der Publikation

### 2.1 Einleitung

Weltweit sind kardiovaskuläre Erkrankungen (CVD) hauptverantwortliche Ursachen für Morbidität und Mortalität [2-4]. Ursprung der CVD ist Atherosklerose, ein langsam fortschreitender Prozess, der sich durch Einlagerungen in die Gefäßwand auszeichnet. Diese Gefäßwandinlagerungen werden typischerweise bei prominenter fokaler Wandverdickung oder ab einer Intima-Media-Dicke von  $\geq 1,5 \text{ mm}$  als Plaque bezeichnet [5]. Im Krankheitsverlauf besteht die Gefahr, dass es durch Plaquerupturen mit Thrombozytenaktivierung zu sekundären Thrombosen kommen kann. Diese sind dann verantwortlich für kardio- und neurovaskuläre Ereignisse (CVD-Ereignisse), wie Herzinfarkt oder Schlaganfall [6-9]. So werden beispielsweise 15 % der ischämischen Schlaganfälle durch vulnerable, instabile Plaques in den extrakraniellen hirnversorgenden Blutgefäßen, den Karotiden, verursacht [10,11].

Die Einteilung in stabile und instabile vulnerable Plaques spielt hierbei eine wichtige Rolle für das Risiko von Plaquerupturen und damit für das Risiko von CVD-Ereignissen [12]. Maßgeblich für diese Einteilung ist der Aufbau der Plaque. Während stabile Plaques aus einem hohen Anteil an fibrösem Gewebe bestehen und große kalzifizierte Bereiche besitzen, bestehen instabile Plaques aus einem hohen Lipidanteil sowie aus einem nekrotischen Kern und hämorrhagischen Anteilen. Eben durch diesen hohen Lipidgehalt sind instabile Plaques rupturgefährdet und zeichnen sich durch eine hohe Vulnerabilität aus [13,14]. Daher ist die Plaquecharakterisierung für die kardiovaskuläre Risikostratifizierung von zunehmender Bedeutung [5,15].

Eine Ultraschalluntersuchung der Karotiden hat einen geringen Kostenaufwand, ist einfach verfügbar, reproduzierbar und eine nicht invasive Methode, um atherosklerotische Veränderungen festzustellen [8,15,16]. Ein dabei etablierter Parameter für subklinische Atherosklerose ist die Intima-Media-Dicke in den Karotiden (cIMT). Ist die cIMT erhöht, kann sie als prognostischer Biomarker für zukünftige CVD-Ereignisse herangezogen werden [4,15,17,18]. Die Plaque-Präsenz als etabliertes sonographisches Surrogat der CVD ist mit der Inzidenz von CVD-Ereignissen assoziiert [19-22]. Die Bewertung von Plaques in den Karotiden, bspw. anhand ihrer Präsenz, zeigte eine größere Bedeutung für die Vorhersage zukünftiger CVD-Ereignisse als die cIMT [23,24]. So empfiehlt die *American Society of*

*Echocardiography*, dass die cIMT erst bestimmt werden sollte, wenn keine prominenten Plaques visuell präsent sind, um dann mit ihrer Hilfe mögliche diffuse Plaques zu detektieren [5].

Weder die cIMT noch die Präsenz von Plaques geben Auskunft über die Vulnerabilität der Plaques, da Informationen zum Aufbau der Plaque bei diesen Methoden vernachlässigt werden. Die Messung des Gray-Scale Median (GSM) kann hierfür die notwendigen Informationen zur Plaque-Morphologie anhand der Messung der Plaque-Dichte (Densitometrie) bereitstellen und folglich helfen, vulnerable Plaques ausfindig zu machen [25,26]. Der GSM ist gemäß bisheriger Literatur ein geeigneter Proxy, um die Vulnerabilität von Karotisplaques anhand ihrer Echogenität in der B-Bild-Sonographie zu quantifizieren und zu beurteilen [16,25,27].

Hierbei stellen sich die stabilen, kalkreichen Plaques echoreich mit hohen GSM-Werten dar, da das fibröse Gewebe und die Kalzifikation verhältnismäßig stark die Ultraschallwellen reflektiert [13,25,28,29]. Die vulnerablen, instabilen Plaques hingegen sind echoarm mit niedrigen GSM-Werten [13,25,29,30]. Niedrige GSM-Werte in Karotisplaques sind mit einem erhöhten Risiko für CVD-Ereignisse, insbesondere Schlaganfällen assoziiert [13,31-33].

Im Gegensatz zur cIMT, die mit Faktoren wie Hypertonie, Body-Mass-Index (BMI) oder dem Raucherstatus zusammenhängt, ist der GSM mit anderen Risikofaktoren assoziiert. Hierbei handelt es sich eher um metabolische Marker für Inflammation und oxidativen Stress oder Dyslipidämie. Die Echogenität der Karotisplaque und die cIMT scheinen daher unterschiedliche Aspekte der Atherosklerose abzubilden. Der GSM spiegelt dabei eher metabolische Aspekte wider [13,34-36].

Ernährung beeinflusst die Bildung von Atherosklerose und Plaques [37]. Die Prävention von Atherosklerose durch Lebensstilmodifikationen wird durch bisherige Literatur unterstützt. Dieser zufolge kann CVD in einer Vielzahl der Fälle durch eine Anpassung des Lebensstils und der Ernährung vermieden werden [2,4]. Eine weitverbreitete Lebensstilmodifikation ist die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln [38]. So verwenden mehr als die Hälfte der US-Erwachsenen Supplemente [39-41]. In Deutschland konnte in der EPIC-Heidelberg-Kohorte beim Follow-up (2004-2006) eine steigende Prävalenz bis auf etwa 45 % für die Einnahme von Vitamin- oder Mineralstoffpräparaten gefunden werden [42]. Im Allgemeinen konsumieren Frauen häufiger Nahrungsergänzungsmittel als Männer und die Prävalenz nimmt mit höherem Lebensalter zu [40,42-46].

Angesichts der weiten Verbreitung von Supplementen, ist es besonders spannend, ob durch ihre Einnahme sonographische Parameter wie der GSM oder die Präsenz von Plaques in den Karotiden beeinflusst werden können.

Nahrungsergänzungsmittel dienen insbesondere dem Ausgleich oder der Prävention von ernährungsbedingten Mängeln, die wiederum zu Folgeerkrankungen führen können. Sie sind kein Arzneimittel, sondern sollen die Ernährung als konzentrierte Nährstoffquelle ergänzen [47]. Somit sind sie kein essentieller Bestandteil der Ernährung sondern additiv [48]. Supplementnutzer und -nutzerinnen versprechen sich durch die Einnahme vor allem allgemeine Gesundheit und Wohlbefinden sowie das Füllen von Nährstofflücken [49].

Bisherige Literatur konnte keine ausreichende Evidenz zur Prävention von CVD oder Schlaganfällen als CVD-Ereignis durch die Verwendung von Supplementen liefern [39,42,50-52]. Zusammenhänge zwischen Nahrungsergänzungsmittelaufnahme und der cIMT sind bisher häufig widersprüchlich. Dennoch ist zu erwähnen, dass einige Reviews und Metaanalysen von einem Vorteil durch die Supplementation von Präparaten aus dem B-Vitamin-Komplex – insbesondere Folsäure (Vitamin B<sub>9</sub>) – für das Schlaganfallrisiko ausgehen [53-56].

Zu Assoziationen zwischen der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln und dem von GSM oder Präsenz von Karotisplaques wurden bisher keine Studien durchgeführt.

In dieser Arbeit werden Assoziationen zwischen Nahrungsergänzungsmitteln und dem GSM als neu etablierten Biomarker für Plaquevulnerabilität und Prädiktor für Schlaganfälle bzw. der Präsenz von Karotisplaques untersucht. Die hierfür erhobenen Daten und Teilergebnisse dieser Arbeit wurden am 18.03.2023 im Journal *Nutrients* unter dem Titel „*Cross-Sectional Association of Dietary Patterns and Supplement Intake with Presence and Gray-Scale Median of Carotid Plaques – A Comparison between Women and Men in the Population-Based Hamburg City Health Study*“ veröffentlicht [1].

## **2.2 Methoden**

Die Datenerhebung dieser Arbeit erfolgte im Rahmen der *Hamburg City Health Study* (HCHS). Die HCHS ist eine prospektive, epidemiologische, ortsbezogene (*single-center*) Kohortenstudie mit longitudinalem Design [57]. Es liegt ein positives Ethikvotum (PV5131) der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg vor.

**Studienpopulation** Im Rahmen der HCHS wurde eine repräsentative Bevölkerungsstichprobe erstellt, die 45.000 Hamburger und Hamburgerinnen im Alter von 45 bis 74 Jahren einschließt. Die Rekrutierung der Teilnehmer und Teilnehmerinnen erfolgte durch schriftliche Einladung anhand der Daten der Hamburger Einwohnermeldeämter und erfolgte freiwillig nach explizierter informierter Einwilligung. Ausschlusskriterien waren insuffiziente Deutschkenntnisse und die physische oder psychische Unfähigkeit, zum Studienzentrum zu gelangen und an den Untersuchungen teilzunehmen [57]. Die Daten wurden erhoben in einem Zeitraum vom 08.02.2016 bis zum 30.11.2022.

Für diese Arbeit wurden lediglich Daten der ersten Teilkohorte der HCHS, bestehend aus 10.000 bis November 2018 eingeschlossenen Teilnehmern und Teilnehmerinnen, für eine retrospektive Querschnittsanalyse herangezogen.

**Ultraschallmessungen** Die Ultraschallmessungen der Karotiden wurden von zertifizierten und geschulten Studienassistenten und -assistentinnen durchgeführt. Hierfür wurde ein Siemens SC2000® Ultraschallgerät und eine lineare 7,5 Mhz-Breitbandsonde verwendet. Die Fachbereiche der Neurologie und Gefäßmedizin führten eine kontinuierliche Überwachung und Qualitätssicherung durch. Es wurde eine Standardverfahrensanweisung erstellt, anhand der im Grauwertmodus (B-Bild) sowohl rechts als auch links eine dreifache Messung der cIMT mindestens 10 mm proximal des Bulbus durchgeführt wurde. Weiterhin erfolgte eine Darstellung von Plaques im Bulbus, in der Arteria carotis communis sowie in den abgangsnahen Aa. carotides interna et externa. Eine Plaque ist hierbei definiert als eine fokale Erweiterung der cIMT von mindestens 1,5 mm. Die Plaque-Darstellung erfolgte in der Longitudinalansicht der Karotiden. Die Ultraschallmessserien wurden im *Digital Imaging and Communications in Medicine* (DICOM) -Format gespeichert.

**GSM-Bestimmung** Die Auswertung der Echogenität der Karotisplaques erfolgte durch geschulte Doktoranden und Doktorandinnen anhand der Bestimmung des GSM mittels einer speziell für dieses Projekt entwickelten Software. Hierbei handelt es sich um ein Segmentierungstool, das auf dem *Open-Source*-Projekt *JSPaint* basiert. Es wurde aus einem anderen Projekt [58] hinzugefügt und angepasst [59]. Für die GSM-Bestimmung wurde dann aus den DICOM-Bildern ein geeigneter Bildausschnitt gewählt und als *Portable Network Graphics* (PNG) -Datei gespeichert. Dieser Bildausschnitt wurde anschließend manuell segmentiert, indem via Computermaus die Plaque farblich

umrandet wurde. Weiterhin wurde für die Bildnormalisierung je ein Marker in das Gefäßlumen (Blut) und einer in die Adventitia eingezeichnet und das segmentierte Bild wurde erneut als PNG-Datei gespeichert. Im zweiten Schritt wurde die Bildhelligkeit dann normalisiert. Als Referenz dienten das Gefäßlumen als dunkelste Struktur (GSM = 0) und die Adventitia als helle Struktur (GSM = 190). Die Referenz-GSM-Werte wurden anhand bestehender Literatur festgelegt [60,61]. Insgesamt reicht die GSM-Wertspanne von 0 bis 255. Es wurden dann mittels der o.g. Software jeweils Minimum, Maximum, Mittelwert und Median der Echogenitätswerte der Plaque bestimmt und in einer *Comma-Separated Values* (CSV) -Datei gespeichert.

Jede Plaque wurde zur Verbesserung der *Interrater*-Reliabilität zweifach von je unterschiedlichen Untersuchern und Untersucherinnen segmentiert. Die *Interrater*-Reliabilität wurde an einer zufälligen Stichprobe von 135 Probanden und Probandinnen (5 %) gemessen. Ausreißer wurden bestimmt und es erfolgten Nachmessungen.

Primärer Endpunkt war der Mittelwert des GSM aus allen Echogenitätsmessungen eines Probanden bzw. einer Probandin als numerische Variable.

**Ernährungsfragebogen** Die Datenerhebung von Ernährungsgewohnheiten erfolgte retrospektiv anhand einer Selbstangabe über Häufigkeit und Portionsgrößen und die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln in validierten Fragebogen. Die Daten zur Nahrungsergänzungsmittelaufnahme wurden mittels des *Food frequency questionnaire* (Version 2, FFQ2) erhoben, der im Rahmen der *European Perspective Investigation into Cancer and Nutrition* (EPIC) Studie entwickelt wurde [62]. Es wurde die Supplementation über mindestens einen Monat innerhalb der letzten zwölf Monate erfragt. Insgesamt wurden Multipräparate (Multivitamin-, Mineralstoff- oder Kombinationspräparate aus Multivitaminen und Mineralstoffen), sowie 14 weitere Einzel- und Kombipräparate und neun Naturheilprodukte untersucht. Weiterhin gab es die Möglichkeit für Freitextantworten. Für diese Arbeit wurden die Daten der folgenden häufig genutzten Supplemente herangezogen: Multivitamin- und Multimineralstoffpräparate, Calcium, Magnesium, B-Vitamin-Komplex und Folsäure.

**Statistische Analysen** In der deskriptiven Datenanalyse werden metrische, stetige Variablen als Median und Interquartilsabstand (IQR) dargestellt. Kategoriale Variablen werden als absolute Zahlen und prozentualer Anteil präsentiert. In der explorativen Datenanalyse wurden mittels Regressionen assoziative Zusammenhänge eruiert.

Multiple lineare Regressionen wurden verwendet, um die Assoziation zwischen Echogenität (GSM) und der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln in der GSM-Untergruppe ( $n = 2.163$ ) der HCHS-Teilkohorte ( $n = 10.000$ ) zu untersuchen.

Alle Modelle wurden separat sowohl für Männer als auch für Frauen berechnet. Adjustiert wurde für folgende Parameter: kein Sport (Teilnehmende betreiben nie Sport mit Ausnahme von Fahrradfahren und Gehen), Alter, sozioökonomischer Status (bestehend aus Bildung, Beruf, Einkommen), BMI, Raucherstatus, Energiezufuhr, Dyslipidämie ( $LDL/HDL > 3,5$  oder anamnestische Einnahme eines Lipidsenkerns), Hypertonus ( $> 140 \text{ mmHg}$  systolisch oder  $> 90 \text{ mmHg}$  diastolisch), Diabetes mellitus, Herzinfarkt, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern, Schlaganfall oder transitorische ischämische Attacke in der Vergangenheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate und die anamnestische Medikamenteneinnahme von Lipidsenkern, Antihypertensiva, Antidiabetika, Thrombozytenaggregationshemmern.

Die Ergebnisse wurden als Betas mit ihrem 95 %-Konfidenzintervall (KI) angegeben. Es erfolgte keine Adjustierung für multiple Vergleiche. Es wurde eine multiple Imputation zur Vervollständigung des Datensatzes durchgeführt. Hierfür wurden Schätzungen aus separaten verketteten Gleichungen von 20 Kopien der Datensätze mit zehn Iterationen gemittelt und die Standardfehler anhand der Regeln nach Rubin angepasst [63].

In einer zusätzlichen Analyse wurden mit den Daten der gesamten HCHS-Teilkohorte ( $n = 10.000$ ) multiple logistische Regressionen zum Vorhandensein von mindestens einer Plaque in den Karotiden durchgeführt. In diesem voll-adjustierten Modell wurde für Alter, Geschlecht, Bildung (niedrig vs. mittel vs. hoch), BMI, Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie, Raucherstatus, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern, Herzinfarkt, Schlaganfall und Sport adjustiert. Die Einteilung von Bildung in drei Kategorien erfolgte entsprechend der *International Standard Classification of Education* (ISCED 2011) [64].

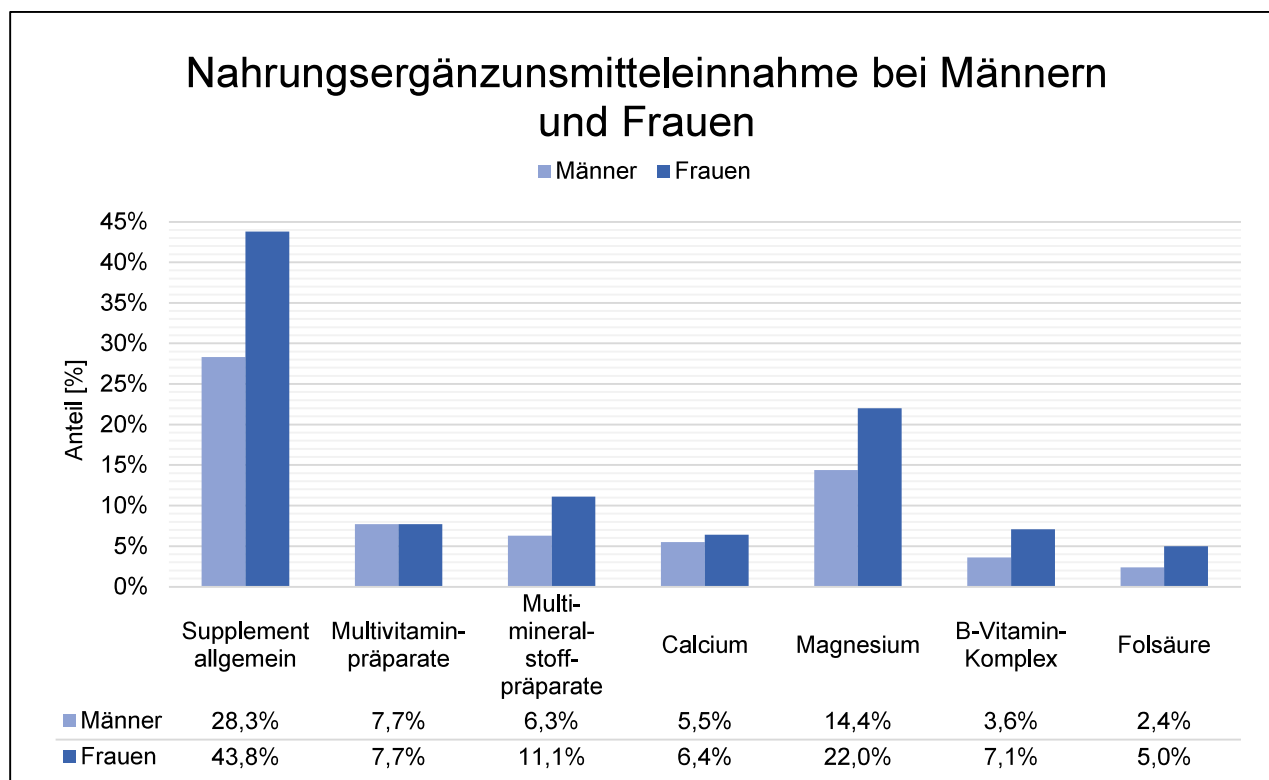
Die statistische Signifikanz wurde mit  $\alpha = 0,05$  definiert. Für diese Arbeit wurden für alle statistischen Analysen die Leitlinien des *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE-) Statement beachtet [65]. Alle Analysen wurden in enger Zusammenarbeit mit dem statistischen Team der HCHS mit der Software R Version 4.0.3 durchgeführt [66].

## 2.3 Ergebnisse

### 2.3.1 Baseline-Charakteristika der GSM-Untergruppe

Von 10.000 Teilnehmern und Teilnehmerinnen der ersten HCHS-Teilkohorte wurden bei 2.163 Teilnehmenden mindestens eine Plaque in den Karotiden gefunden. Innerhalb dieser Gruppe waren 921 (42,6 %) weiblich und 1242 (54,4 %) männlich. Das mediane Alter betrug 68 [IQR (62; 73)] Jahre. Insgesamt hatten 486 (22,5 %) Teilnehmer und Teilnehmerinnen aktuell einen positiven Raucherstatus. Adipositas hatten 272 (21,9 %) Männer und 187 (20,3 %) Frauen. Während 397 (32,0 %) Männer keinen Sport betrieben, betrug diese Anzahl bei Frauen 249 (27,0 %).

Insgesamt haben 755 Personen ein Nahrungsergänzungsmittel eingenommen. Dies entspricht einer Punktprävalenz von 34,9 %. Der prozentuale Anteil an Männern bzw. Frauen, die Nahrungsergänzungsmittel eingenommen haben, wurde in Abbildung 1 dargestellt. Der Anteil der Einnahme irgendeines Supplementes war bei Frauen größer als bei Männern (43,8 % vs. 23,8 %). Dieser Trend zeigte sich auch nach Einteilung in Unterkategorien für alle in dieser Arbeit untersuchten Präparate mit Ausnahme einer gleichen Aufteilung für die Einnahme von Multivitaminen (7,7 %).



**Abbildung 1.** Nahrungsergänzungsmittelaufnahme bei Männern und Frauen.

Der mediane GSM betrug bei Männern 56,50 [IQR (46,00; 68,50)] und bei Frauen 55,80 [IQR (44,25; 70,33)]. Dieser Unterschied zwischen Männern und Frauen zeigte sich nicht signifikant ( $p = 0,877$ ).

### **2.3.2 Lineare Regression zwischen der Supplementeinnahme mit dem GSM**

Im Folgenden werden die Ergebnisse der multivariaten linearen Regression zwischen der Supplementeinnahme und dem GSM bei Frauen und Männern innerhalb der GSM-Untergruppe ( $n = 2.163$ ) nach Adjustierung beschrieben.

Es konnte eine signifikante Assoziation zwischen Folsäure-Einnahme und GSM in Männern gefunden werden [GSM +9,12; 95 %-KI (1,37; 16,86);  $p = 0,021$ ]. Bei Frauen zeigte sich ein gegenläufiger, allerdings nicht-signifikanter Trend, von einer Senkung des GSM um  $-2,50$  [95 %-KI ( $-9,31$ ;  $4,31$ );  $p = 0,472$ ].

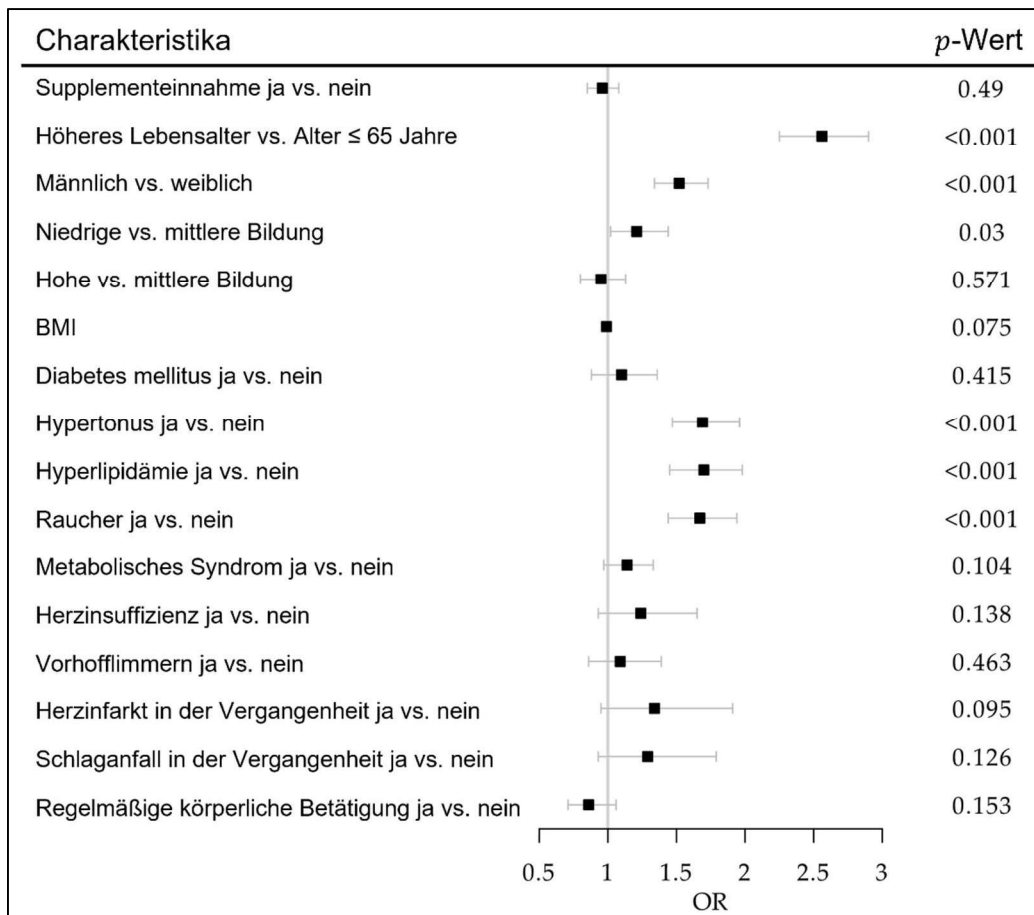
Zwischen den anderen erhobenen Nahrungsergänzungsmitteln und GSM konnten keine signifikanten Assoziationen gefunden werden.

### **2.3.3 Logistische Regression für die Plaque-Präsenz**

Die Ergebnisse der logistischen Regression mit multivariablen Adjustierungen werden als Odds Ratios (OR) für die Präsenz mindestens einer Karotisplaque als abhängige Variable in *Abbildung 2* dargestellt. Hierbei handelt es sich um eine zusätzliche Analyse innerhalb der gesamten HCHS-Teilkohorte ( $n = 10.000$ ).

Die Odds für die Präsenz mindestens einer Plaque in den Karotiden war signifikant erhöht innerhalb der folgenden Kategorien: höheres Lebensalter ( $> 65$  Jahre), Männer, niedrige Bildung, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie und positiver Raucherstatus.

Es konnte keine signifikante Assoziation zwischen der allgemeinen Einnahme eines Nahrungsergänzungsmittels und der Präsenz mindestens einer Plaque in den Karotiden gefunden werden [OR 0,96; 95 %-KI (0,85; 1,08);  $p = 0,490$ ].



**Abbildung 2:** Boxplot der multivariaten logistischen Regression zur Präsenz mindestens einer Plaque in den Karotiden für Einnahme von Supplementen. Dieses Modell wurde adjustiert für Alter, Geschlecht, Bildung (niedrig vs. mittel vs. hoch), BMI, Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie, Raucherstatus, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern, Herzinfarkt, Schlaganfall und Sport. Abkürzungen: vs., versus; BMI, Body-Mass-Index; OR, Odds Ratio.

## 2.4 Diskussion

Dies ist die erste Studie, die sich mit Assoziationen zwischen dem GSM und den hier untersuchten Supplementen beschäftigt. Weiterhin ist sie die erste, die Assoziationen zwischen Plaque-Präsenz und Nahrungsergänzungsmittelaufnahme untersucht.

Die Baseline-Daten zur Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln passen zu den demografischen Daten bisheriger Studien. Diese haben ebenfalls nachgewiesen, dass eine Supplementeinnahme bei Frauen häufiger ist als bei Männern [40,43-46,67,68].

Männer mit Folsäuresupplementation zeigten signifikant höhere GSM-Werte. Alle anderen untersuchten Supplemente waren weder bei Männern noch bei Frauen mit dem GSM assoziiert. Die Präsenz von mindestens einer Karotisplaque zeigte in dieser Arbeit keine Assoziation zu der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln.

**Gray-Scale Median (GSM)** Ein niedriger GSM ist mit einem erhöhten Risiko für CVD-Ereignisse assoziiert [13,31-33]. Der GSM war in dieser Arbeit mit erhöhten Werten bei Folsäure-einnehmenden Männern assoziiert. Im Gegensatz dazu wurde bei Frauen, die Folsäure einnahmen, ein gegenläufiger Trend gefunden, jedoch nicht signifikant. Trotz der signifikanten GSM-Erhöhung um 9,12 [95 %-KI (1,37; 16,86);  $p = 0,021$ ] bei Männern kann die Nullhypothese nicht bedenkenlos verworfen werden. Der Nullhypothese zufolge gibt es keine Assoziation zwischen der Einnahme von Folsäure und dem GSM. Obwohl die Studienpopulation insgesamt sehr groß ist, haben nur wenige Männer ( $n = 30$ ; prozentualer Anteil von 2,4 %) Folsäure eingenommen. Eine Koinzidenz kann folglich nicht ausgeschlossen werden und die Nullhypothese könnte wahr sein. Weiterhin kann dieses Ergebnis trotz Adjustierung auf andere Störfaktoren zurückzuführen sein. Hierbei spielt eine wichtige Rolle, dass Nutzer von Nahrungsergänzungsmitteln in der Regel gesündere Lebensgewohnheiten als Nichtnutzer haben [49], sodass die gefundene vorteilhafte Assoziation auf andere gesunde Lebensgewohnheiten zurückzuführen sein könnte. Für einen Vorteil durch Folsäuresupplementation für die Schlaganfallprävention spricht, dass drei Reviews ein geringeres Risiko für Schlaganfälle durch die Einnahme von Folsäure bestätigt haben [54-56,69]. Zukünftige Studien sollten daher den Effekt von Folsäure auf den GSM und damit die Plaquevulnerabilität vor allem in prospektivem Design und unter Auswertung des Einflusses verschiedener Dosierungen im Rahmen von randomisierten kontrollierten Studien weiter eruieren.

Ein anderer zu beachtender Aspekt ist, ob das Ergebnis eines nur geringfügig erhöhten GSM um 9,12 bei Männern mit Folsäureeinnahme innerhalb einer GSM-Spanne von 0 bis 255 von klinischer Relevanz ist. Es haben viele Autoren beschrieben, dass niedrigere GSM-Werte und damit echoärmere, vulnerablere Plaques mit einem erhöhten Schlaganfall-Risiko einhergehen [33,70,71]. Es wurde bisher jedoch kein eindeutiger *Cut-off*-Wert für den GSM definiert, wann eine Plaque als echoreich oder echoarm gilt. Es existieren zum Beispiel *Cut-off*-Werte eines GSM  $< 50$  [70] oder  $< 74$  [72] für echoarme und entsprechend darüber echoreiche Plaques, aber auch Einteilungen bei denen Plaques mit einem GSM  $< 25$  als echoarm und einem GSM  $> 50$  als echoreich definiert werden [73]. Diese verschiedenen *Cut-off*-Werte unterliegen bereits einer größeren Differenz als die in dieser Arbeit gefundene GSM-Differenz von 9,12 bei Männern mit Folsäuresupplementation im Vergleich zu denen ohne Folsäuresupplementation. Was dennoch für eine klinische Relevanz sprechen

könnte, sind die Ergebnisse von el-Barghouty *et al.* [32]. Hier traten Hirninfarkte häufiger bei echoarmen als bei echoreichen Plaques auf [32]. Dieses Ergebnis bezog sich auf einen mittleren GSM von 29,7 bei Hirninfarkt-assoziierten Plaques im Vergleich zu einem mittleren GSM von 37,8 bei Plaques, die nicht Hirninfarkt-assoziiert waren. Es lag somit nur eine geringe GSM-Differenz von 8,1 vor, die zu signifikanten Ergebnissen führte. Insgesamt sind daher auch an dieser Stelle weitere Studien notwendig, um festzulegen, welche GSM-Änderungen oder auch welche *Cut-off*-Werte des GSM für CVD-Ereignisse, wie ischämische Schlaganfälle relevant sind.

Für alle anderen Supplemente ergab sich in dieser Arbeit keine signifikante Assoziation zum GSM.

Trotz der unzureichenden Ergebnisse zwischen der Einnahme von Supplementen und dem GSM, gibt es einige Evidenz zwischen Supplementen und CVD oder der cIMT als Endpunkte. Dies lässt daran zweifeln, ob der GSM ein geeigneter Parameter ist, um Zusammenhänge zu Supplementen aufzudecken. Unterstützt wird dieser Gedankengang dadurch, dass GSM und cIMT mit unterschiedlichen Risikofaktoren assoziiert zu sein scheinen [30,35,36] und somit verschiedene Aspekte der Atherosklerose abbilden [34]. Vielleicht sind andere Messmethoden nützlicher, um Einflüsse von Nahrungsergänzungsmitteln auf Plaquecharakteristika, wie die Echogenität, zu untersuchen.

**Supplemente und CVD** Multivitaminpräparate mit oder ohne Multimineralstoffen sind insgesamt die beliebtesten Nahrungsergänzungsmittel [43,68,74]. Bisher wurden allerdings keine Vorteile für die CVD-Mortalität durch Multivitaminpräparate gefunden [56,75]. Für einen möglichen Zusammenhang mit der cIMT oder dem Vorhandensein von Karotisplaques liegen keine Studien vor. Sowohl ein Review von Chhabra *et al.* als auch die *American Heart Association* fassen zusammen, dass es keine ausreichende Evidenz gibt, um eine Supplementation von Multivitamin- oder Mineralstoffpräparaten zur Prävention von CVD zu befürworten [50,51].

In Deutschland gehören Magnesium und Calcium zu den drei favorisierten Mineralstoffpräparaten [76,77]. Einige wenige Studien haben eine inverse Assoziation zwischen der Einnahme von Magnesiumsupplementen und von Magnesium über die Nahrung und der cIMT sowie dem CVD-Risiko festgestellt [78-80]. Andere Autoren und Autorinnen hingegen haben keine Hinweise auf einen Nutzen gefunden [81,82].

Calciumpräparate betreffend haben einige Studien schädliche Auswirkungen gezeigt [83]. Insbesondere bei Männern [84] und postmenopausalen Frauen [85-87] sind die CVD-Ereignisraten erhöht. Im Gegensatz dazu haben andere Studien keine Auswirkungen einer Einnahme von Calcium auf CVD-Ereignisse oder die cIMT nachweisen können [56,88-91].

B-Vitamine und Folsäure könnten positive Effekte auf das Schlaganfall-Risiko und die cIMT haben [53,74,80,92-95]. Die positiven Effekte werden häufig der regulatorischen Wirkung von diesen Vitaminen im Homocystein (Hcy) -Metabolismus zugeschrieben. Erhöhte Plasma-Hcy-Konzentrationen zeigen einen Zusammenhang zur Atherogenese und kardiovaskulären Ereignissen [96]. Von vielen Autoren und Autorinnen wurde beschrieben, dass B-Vitamine und Folsäure eine Senkung des Plasma-Hcy bewirken [93-95,97-99]. Chambers *et al.* konnten zeigen, dass eine Verbesserung der vaskulären endothelialen Funktion durch Supplementation von Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> in Zusammenhang mit der Senkung der Hcy-Konzentration steht [100]. Die Hcy-Konzentration war mit dem GSM der Karotiden [101] oder auch mit dem GSM des Intima-Media-Komplexes in den Brachialarterien assoziiert [102]. Dies passt ebenfalls zu der in dieser Arbeit gefundenen Assoziation zwischen höheren GSM-Werten bei Folsäure-Supplementation. Dennoch konnten viele andere Autoren trotz des Hcy-senkenden Effektes keine Assoziationen zu CVD, Schlaganfällen oder der cIMT durch Supplementation von B-Vitaminen und Folsäure finden [97,99,103-105]. Der aktuellen Literatur jedoch zufolge hat Folsäuresupplementation, wie oben bereits beschrieben, in vier Reviews einen vielversprechenden, präventiven Effekt auf das Schlaganfallrisiko und/ oder eine Reduktion der cIMT-Progression gezeigt [54-56,69]. Ob dieser mögliche Benefit auf einer Senkung der Hcy-Konzentration beruht, bleibt fraglich.

Insgesamt ist trotzdem festzustellen, dass die Ergebnisse zu Assoziationen zwischen Nahrungsergänzung und CVD oder cIMT inkonsistent sind. Daher empfiehlt die AWMF in ihrer S3-Leitlinie für Kardiologische Rehabilitation die Einnahme von Supplementen nicht generell, sondern nur in bestimmten Populationen und bei bestimmten Indikationen zielgerichtet und spezifisch durchzuführen [106]. Auch die *European Society of Cardiology* hat keine Empfehlung für die Einnahme von Supplementen zur Prävention von CVD ausgesprochen [107]. In anderen Studien, wie zum Beispiel von Kim *et al.*, wurden keine Assoziationen zwischen der Gesamtmortalität und der Supplementeinnahme gefunden und diese schlussfolgern daher, dass gesunde

Menschen keine Nahrungsergänzungsmittel benötigen [108]. Diese Schlussfolgerungen werden ebenfalls durch die Ergebnisse dieser Arbeit unterstützt, die kaum Assoziationen zwischen dem GSM und der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln finden konnten.

**Plaque-Präsenz** Es zeigte sich in der zusätzlichen Analyse dieser Arbeit in adjustierten Regressionsmodellen eine reduzierte Odds für Plaque-Präsenz in den Karotiden bei allgemeiner Einnahme eines Nahrungsergänzungsmittels, jedoch nicht signifikant. Daher konnte letztlich keine Assoziation zwischen der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln und dem Vorhandensein von Karotisplaques nachgewiesen werden. Allerdings konnte eine signifikant erhöhte Odds Ratio für die Präsenz mindestens einer Plaque in den Karotiden bei den folgenden Parametern gefunden werden: höheres Lebensalter, Männer, niedrige Bildung, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie und Raucherstatus. Diese Ergebnisse passen zu den gefundenen Assoziationen bisheriger Studien zwischen der Präsenz von Karotisplaques und höherem Alter, männlichem Geschlecht [109], Rauchen [110] und Krankheiten, wie Hypercholesterinämie [21], Hypertonus, Diabetes mellitus [111,112] und Herzerkrankungen [113]. Dass die Präsenz von Karotisplaques mit der Inzidenz von CVD-Ereignissen assoziiert ist [19-21], lässt sich damit vereinbaren, dass es sich bei den meisten der assoziierten Parameter um klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren handelt.

In der bestehenden Literatur fehlen Studien, die die Supplementeinnahme und die Plaque-Präsenz untersuchen.

**Stärken und Limitationen** Die vorliegende Arbeit verfügt mit 2.163 Teilnehmenden innerhalb der GSM-Untergruppe bzw. 10.000 Teilnehmenden in der zusätzlichen Analyse zur Präsenz mindestens einer Karotisplaque über eine sehr große Stichprobe. Trotz randomisierter Stichprobenerhebung kann ein *Selection-Bias* nicht vollkommen ausgeschlossen werden, denn HCHS-Teilnehmende waren im Vergleich zur deutschen Allgemeinbevölkerung besser gebildet und gesundheitsbewusster und besaßen weniger kardiovaskuläre Risikofaktoren [114]. Die HCHS-Studienpopulation besteht darüber hinaus aus Personen mittleren Alters aus der Großstadt Hamburg, sodass die externe Validität eingeschränkt sein könnte und Verallgemeinerungen auf andere Altersgruppen und auf Personen aus ländlicheren Gebieten nur mit Vorsicht getroffen werden sollten.

In der vorliegenden Arbeit handelt es sich ausschließlich um eine Querschnittsanalyse, weshalb nur Aussagen über mögliche Assoziationen getroffen werden können. Es können somit keine kausalen Zusammenhänge festgestellt werden. Hierfür würde man ein Längsschnittdesign oder eine randomisierte kontrollierte Studie benötigen.

Es ergibt sich ein Risiko für *Reporting-* und *Recall-Bias* durch die Erhebung der Ernährungsdaten via retrospektiver Selbstangaben in den Ernährungsfragebögen. Weiterhin wurden keine Daten zur Dosierung, Kontinuität oder Gesamtdauer der Einnahme der Nahrungsergänzungsmittel gesammelt.

Eine weitere Limitation ist die fehlende Adjustierung für multiples Testen, durch die es zu einer Kumulierung von Fehlern 1. Art kommen kann. Durch diese Kumulierung steigt in Anbetracht der großen Anzahl an untersuchten Nahrungsergänzungsmitteln die Wahrscheinlichkeit, dass für ein einzelnes Supplement ein falsch positives Ergebnis vorliegt. Dadurch könnte die Nullhypothese vorschnell verworfen werden, obwohl eigentlich keine Assoziation besteht.

Weiterhin wurde der GSM anhand von 2D-Ultraschallbildern gemessen und es können so keine Informationen über die gesamte Plaque gewonnen werden. Diese Limitation hätte mit einem 3D-Ultraschall vermieden werden können.

Eine letzte Limitation ist die GSM-Bestimmung über das eigenständige Einzeichnen der Plaques durch verschiedene, geschulte Untersucher, wodurch es zu einer *Intra-* und *Interrater-Variabilität* kommen kann. Außerdem ist eine Verzerrung der echten GSM-Werte möglich, da auch die Normalisierung anhand selbst eingezeichneter Referenzwerte erfolgte [59].

**Schlussfolgerungen** Abschließend ist festzuhalten, dass weitere Studien, insbesondere prospektive oder randomisierte kontrollierte Studien, zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen dem GSM und der Präsenz von Karotisplaques mit der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln notwendig sind. Eine mögliche Assoziation zwischen der Einnahme von Folsäure und höheren GSM-Werten bei Männern konnte in dieser Arbeit belegt werden. Daher sollte in zukünftigen Studien insbesondere ein Augenmerk darauf gelegt werden, dieses Ergebnis zu bestätigen und die klinische Relevanz zu beurteilen.

## 2.5 Zusammenfassung (Deutsch)

Vulnerable Plaques in den Karotiden verursachen 15 % der ischämischen Schlaganfälle. Die Messung des Gray-Scale Medians (GSM) als Proxy für Plaquevulnerabilität kann helfen, vulnerable Plaques anhand der quantitativen densitometrischen Messung der Echogenität zu identifizieren. Vulnerable Plaques stellen sich in der B-Bild-Sonografie durch ihren hohen Lipidgehalt echoarm mit niedrigen GSM-Werten dar.

Diese Arbeit untersucht mögliche Assoziationen zwischen der Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln insgesamt bzw. häufig genutzten Supplementen und sowohl dem GSM-Wert als auch der Präsenz von Karotisplaques mit Hilfe der B-Bild-Sonografie. Bei den untersuchten Supplementen handelt es sich um Multivitamin- und Multimineralstoffpräparate, Calcium, Magnesium, B-Vitamin-Komplex und Folsäure. Es wurde zu diesem Zweck innerhalb einer großen Studienpopulation von 10.000 Teilnehmenden im Alter von 45 - 74 Jahren eine Sonografie der Karotiden durchgeführt. Die Daten zum Einnahmeverhalten für Nahrungsergänzungsmitteln wurden via retrospektiver Ernährungsfragebogen (*Food frequency questionnaire*, Version 2) erhoben.

In linearen Regressionsmodellen konnte eine signifikante Assoziation zwischen höheren GSM-Werten und der Einnahme von Folsäure bei Männern gefunden werden [+9,12; 95 %-KI (1,37; 16,86);  $p = 0,021$ ]. Für andere Nahrungsergänzungsmittel zeigten sich keine weiteren signifikanten Assoziationen weder bei Männern noch bei Frauen. Die Einnahme irgendeines Nahrungsergänzungsmittels war nicht mit dem Vorhandensein von Karotisplaques assoziiert.

Zukünftige Studien sollten untersuchen, ob der GSM ein geeigneter Parameter zur Untersuchung von Effekten durch Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln auf die Plaquevulnerabilität ist. Weiterhin sollte insbesondere durch prospektive und randomisierte kontrollierte Studien untersucht werden, ob Folsäureeinnahme einen klinisch relevanten Einfluss auf den GSM und damit die Vulnerabilität von Plaques hat und ob sich dieser Einfluss gegebenenfalls nur auf Männer erstreckt.

## 2.6 Summary (English)

Vulnerable plaques in the carotids cause 15% of ischemic strokes. Measurement of gray-scale median (GSM) as a proxy for plaque vulnerability can help identify vulnerable plaques based on quantitative densitometric measurement of echogenicity. Vulnerable plaques present with low GSM values on B-scan ultrasonography due to their high lipid content.

This dissertation investigates possible associations between supplement intake overall or commonly used supplements and both GSM levels and the presence of carotid plaques using B-scan ultrasonography. The supplements examined were multivitamin and multimineral supplements, calcium, magnesium, B-vitamin complex and folic acid. For this purpose, sonography of the carotid arteries was performed within a large study population of 10,000 participants aged 45 - 74 years. Data on dietary supplement intake were collected retrospectively via the food frequency questionnaire (version 2). In linear regression models, a significant association was found between higher GSM and folate intake in men [+9.12, 95% CI (1.37, 16.86),  $p = 0.021$ ]. No other significant associations were shown for the other dietary supplements in either men or women. Also, intake of any supplement was not associated with the presence of carotid plaques.

Future research should evaluate whether GSM is a suitable parameter to examine effects by supplement use on plaque vulnerability. Furthermore, it should be investigated especially with prospective studies or randomized controlled trials whether folate intake has a clinically relevant influence on GSM and thus plaque vulnerability and, if so, whether this influence extends only to men.

### 3. Literaturverzeichnis

1. Assies, J.M.; Sältz, M.D.; Peters, F.; Behrendt, C.A.; Jagodzinski, A.; Petersen, E.L.; Schäfer, I.; Twerenbold, R.; Blankenberg, S.; Rimmel, D.L.; et al. Cross-Sectional Association of Dietary Patterns and Supplement Intake with Presence and Gray-Scale Median of Carotid Plaques-A Comparison between Women and Men in the Population-Based Hamburg City Health Study. *Nutrients* **2023**, *15*, doi:10.3390/nu15061468.
2. Kim, M.J.; Jung, S.K. Nutraceuticals for prevention of atherosclerosis: Targeting monocyte infiltration to the vascular endothelium. *Journal of Food Biochemistry* **2020**, *44*, e13200, doi:https://doi.org/10.1111/jfbc.13200.
3. Torres, N.; Guevara-Cruz, M.; Velázquez-Villegas, L.A.; Tovar, A.R. Nutrition and Atherosclerosis. *Arch Med Res* **2015**, *46*, 408-426, doi:10.1016/j.arcmed.2015.05.010.
4. McClintock, T.R.; Parvez, F.; Wu, F.; Islam, T.; Ahmed, A.; Rani Paul, R.; Shaheen, I.; Sarwar, G.; Rundek, T.; Demmer, R.T.; et al. Major dietary patterns and carotid intima-media thickness in Bangladesh. *Public Health Nutr* **2016**, *19*, 218-229, doi:10.1017/s136898001500124x.
5. Johri, A.M.; Nambi, V.; Naqvi, T.Z.; Feinstein, S.B.; Kim, E.S.H.; Park, M.M.; Becher, H.; Sillesen, H. Recommendations for the Assessment of Carotid Arterial Plaque by Ultrasound for the Characterization of Atherosclerosis and Evaluation of Cardiovascular Risk: From the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* **2020**, *33*, 917-933, doi:10.1016/j.echo.2020.04.021.
6. Badimon, L.; Vilahur, G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *J Intern Med* **2014**, *276*, 618-632, doi:10.1111/joim.12296.
7. Penson, P.E.; Banach, M. The Role of Nutraceuticals in the Optimization of Lipid-Lowering Therapy in High-Risk Patients with Dyslipidaemia. *Curr Atheroscler Rep* **2020**, *22*, 67, doi:10.1007/s11883-020-00887-z.
8. Saba, L.; Sanagala, S.S.; Gupta, S.K.; Koppula, V.K.; Johri, A.M.; Sharma, A.M.; Kolluri, R.; Bhatt, D.L.; Nicolaidis, A.; Suri, J.S. Ultrasound-based internal carotid artery plaque characterization using deep learning paradigm on a supercomputer: a cardiovascular disease/stroke risk assessment system. *Int J Cardiovasc Imaging* **2021**, *37*, 1511-1528, doi:10.1007/s10554-020-02124-9.

9. Scheen, A.J. [From atherosclerosis to atherothrombosis : from a silent chronic pathology to an acute critical event]. *Rev Med Liege* **2018**, *73*, 224-228.
10. Baud, J.M.; Stanciu, D.; Yeung, J.; Maurizot, A.; Chabay, S.; de Malherbe, M.; Chadenat, M.L.; Bachelet, D.; Pico, F. Contrast enhanced ultrasound of carotid plaque in acute ischemic stroke (CUSCAS study). *Rev Neurol (Paris)* **2021**, *177*, 115-123, doi:10.1016/j.neurol.2020.03.023.
11. Flaherty, M.L.; Kissela, B.; Khoury, J.C.; Alwell, K.; Moomaw, C.J.; Woo, D.; Khatri, P.; Ferioli, S.; Adeoye, O.; Broderick, J.P.; et al. Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology* **2013**, *40*, 36-41, doi:10.1159/000341410.
12. Gong, H.Y.; Shi, X.K.; Zhu, H.Q.; Chen, X.Z.; Zhu, J.; Zhao, B.W. Evaluation of carotid atherosclerosis and related risk factors using ultrasonic B-Flow technology in elderly patients. *J Int Med Res* **2020**, *48*, 300060520961224, doi:10.1177/0300060520961224.
13. Karim, R.; Xu, W.; Kono, N.; Li, Y.; Yan, M.; Stanczyk, F.Z.; Hodis, H.N.; Mack, W.J. Comparison of Cardiovascular Disease Risk Factors Between 2 Subclinical Atherosclerosis Measures in Healthy Postmenopausal Women: Carotid Artery Wall Thickness and Echogenicity: Carotid Artery Wall Thickness and Echogenicity. *J Ultrasound Med* **2022**, doi:10.1002/jum.15985.
14. Spanos, K.; Tzorbatzoglou, I.; Lazari, P.; Maras, D.; Giannoukas, A.D. Carotid artery plaque echomorphology and its association with histopathologic characteristics. *J Vasc Surg* **2018**, *68*, 1772-1780, doi:10.1016/j.jvs.2018.01.068.
15. Nezu, T.; Hosomi, N.; Aoki, S.; Matsumoto, M. Carotid Intima-Media Thickness for Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* **2016**, *23*, 18-31, doi:10.5551/jat.31989.
16. Li, Y.; Kwong, D.L.; Wu, V.W.; Yip, S.P.; Law, H.K.; Lee, S.W.; Ying, M.T. Computer-assisted ultrasound assessment of plaque characteristics in radiation-induced and non-radiation-induced carotid atherosclerosis. *Quant Imaging Med Surg* **2021**, *11*, 2292-2306, doi:10.21037/qims-20-1012.
17. Lorenz, M.W.; Markus, H.S.; Bots, M.L.; Rosvall, M.; Sitzer, M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* **2007**, *115*, 459-467, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.628875.

18. Willeit, P.; Tschiderer, L.; Allara, E.; Reuber, K.; Seekircher, L.; Gao, L.; Liao, X.; Lonn, E.; Gerstein, H.C.; Yusuf, S.; et al. Carotid Intima-Media Thickness Progression as Surrogate Marker for Cardiovascular Risk: Meta-Analysis of 119 Clinical Trials Involving 100 667 Patients. *Circulation* **2020**, *142*, 621-642, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046361.
19. Gepner, A.D.; Young, R.; Delaney, J.A.; Budoff, M.J.; Polak, J.F.; Blaha, M.J.; Post, W.S.; Michos, E.D.; Kaufman, J.; Stein, J.H. Comparison of Carotid Plaque Score and Coronary Artery Calcium Score for Predicting Cardiovascular Disease Events: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc* **2017**, *6*, doi:10.1161/JAHA.116.005179.
20. Hollander, M.; Bots, M.L.; Del Sol, A.I.; Koudstaal, P.J.; Witteman, J.C.; Grobbee, D.E.; Hofman, A.; Breteler, M.M. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly: the Rotterdam study. *Circulation* **2002**, *105*, 2872-2877, doi:10.1161/01.cir.0000018650.58984.75.
21. Vilanova, M.B.; Franch-Nadal, J.; Falguera, M.; Marsal, J.R.; Canivell, S.; Rubinat, E.; Miró, N.; Molló, À.; Mata-Cases, M.; Gratacòs, M.; et al. Prediabetes Is Independently Associated with Subclinical Carotid Atherosclerosis: An Observational Study in a Non-Urban Mediterranean Population. *J Clin Med* **2020**, *9*, doi:10.3390/jcm9072139.
22. Wang, C.; Fang, X.; Wu, X.; Hua, Y.; Zhang, Z.; Gu, X.; Tang, Z.; Guan, S.; Liu, H.; Liu, B.; et al. Metabolic syndrome and risks of carotid atherosclerosis and cardiovascular events in community-based older adults in China. *Asia Pac J Clin Nutr* **2019**, *28*, 870-878, doi:10.6133/apjcn.201912\_28(4).0024.
23. Inaba, Y.; Chen, J.A.; Bergmann, S.R. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis. *Atherosclerosis* **2012**, *220*, 128-133, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.044.
24. Störk, S.; van den Beld, A.W.; von Schacky, C.; Angermann, C.E.; Lamberts, S.W.; Grobbee, D.E.; Bots, M.L. Carotid artery plaque burden, stiffness, and mortality risk in elderly men: a prospective, population-based cohort study. *Circulation* **2004**, *110*, 344-348, doi:10.1161/01.Cir.0000134966.10793.C9.
25. Della-Morte, D.; Dong, C.; Crisby, M.; Gardener, H.; Cabral, D.; Elkind, M.S.V.; Gutierrez, J.; Sacco, R.L.; Rundek, T. Association of Carotid Plaque

- Morphology and Glycemic and Lipid Parameters in the Northern Manhattan Study. *Front Cardiovasc Med* **2022**, *9*, 793755, doi:10.3389/fcvm.2022.793755.
26. Naylor, R.; Rantner, B.; Ancetti, S.; de Borst, G.J.; De Carlo, M.; Halliday, A.; Kakkos, S.K.; Markus, H.S.; McCabe, D.J.H.; Sillesen, H.; et al. European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2023 Clinical Practice Guidelines on the Management of Atherosclerotic Carotid and Vertebral Artery Disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **2022**, doi:10.1016/j.ejvs.2022.04.011.
  27. Kadoglou, N.P.E.; Moulakakis, K.G.; Mantas, G.; Kakisis, J.D.; Mylonas, S.N.; Valsami, G.; Liapis, C.D. The Association of Arterial Stiffness With Significant Carotid Atherosclerosis and Carotid Plaque Vulnerability. *Angiology* **2022**, *73*, 668-674, doi:10.1177/00033197211068936.
  28. Khan, F.; Gonçalves, I.; Shore, A.C.; Natali, A.; Palombo, C.; Colhoun, H.M.; Östling, G.; Casanova, F.; Kennbäck, C.; Aizawa, K.; et al. Plaque characteristics and biomarkers predicting regression and progression of carotid atherosclerosis. *Cell Rep Med* **2022**, *3*, 100676, doi:10.1016/j.xcrm.2022.100676.
  29. Alexandratou, M.; Papachristodoulou, A.; Li, X.; Partovi, S.; Davidhi, A.; Rafailidis, V.; Prassopoulos, P.; Kamperidis, V.; Koutroulou, I.; Tsivgoulis, G.; et al. Advances in Noninvasive Carotid Wall Imaging with Ultrasound: A Narrative Review. *J Clin Med* **2022**, *11*, doi:10.3390/jcm11206196.
  30. Taya, N.; Katakami, N.; Mita, T.; Okada, Y.; Wakasugi, S.; Yoshii, H.; Shiraiwa, T.; Otsuka, A.; Umayahara, Y.; Ryomoto, K.; et al. Associations of continuous glucose monitoring-assessed glucose variability with intima-media thickness and ultrasonic tissue characteristics of the carotid arteries: a cross-sectional analysis in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* **2021**, *20*, 95, doi:10.1186/s12933-021-01288-5.
  31. Ariyoshi, K.; Okuya, S.; Kunitsugu, I.; Matsunaga, K.; Nagao, Y.; Nomiyama, R.; Takeda, K.; Tanizawa, Y. Ultrasound analysis of gray-scale median value of carotid plaques is a useful reference index for cerebro-cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Investig* **2015**, *6*, 91-97, doi:10.1111/jdi.12242.
  32. el-Barghouty, N.; Nicolaidis, A.; Bahal, V.; Geroulakos, G.; Androulakis, A. The identification of the high risk carotid plaque. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **1996**, *11*, 470-478, doi:10.1016/s1078-5884(96)80184-5.

33. Nicolaides, A.N.; Kakkos, S.K.; Kyriacou, E.; Griffin, M.; Sabetai, M.; Thomas, D.J.; Tegos, T.; Geroulakos, G.; Labropoulos, N.; Doré, C.J.; et al. Asymptomatic internal carotid artery stenosis and cerebrovascular risk stratification. *J Vasc Surg* **2010**, *52*, 1486-1496.e1481-1485, doi:10.1016/j.jvs.2010.07.021.
34. Spence, J.D. Technology Insight: ultrasound measurement of carotid plaque--patient management, genetic research, and therapy evaluation. *Nat Clin Pract Neurol* **2006**, *2*, 611-619, doi:10.1038/ncpneuro0324.
35. Jung, M.; Parrinello, C.M.; Xue, X.; Mack, W.J.; Anastos, K.; Lazar, J.M.; Selzer, R.H.; Shircore, A.M.; Plankey, M.; Tien, P.; et al. Echolucency of the carotid artery intima-media complex and intima-media thickness have different cardiovascular risk factor relationships: the Women's Interagency HIV Study. *J Am Heart Assoc* **2015**, *4*, doi:10.1161/JAHA.114.001405.
36. Andersson, J.; Sundstrom, J.; Gustavsson, T.; Hulthe, J.; Elmgren, A.; Zilmer, K.; Zilmer, M.; Lind, L. Echogenecity of the carotid intima-media complex is related to cardiovascular risk factors, dyslipidemia, oxidative stress and inflammation: the Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) study. *Atherosclerosis* **2009**, *204*, 612-618, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.038.
37. Munjral, S.; Ahluwalia, P.; Jamthikar, A.D.; Puvvula, A.; Saba, L.; Faa, G.; Singh, I.M.; Chadha, P.S.; Turk, M.; Johri, A.M.; et al. Nutrition, atherosclerosis, arterial imaging, cardiovascular risk stratification, and manifestations in COVID-19 framework: a narrative review. *Front Biosci (Landmark Ed)* **2021**, *26*, 1312-1339, doi:10.52586/5026.
38. Rautiainen, S.; Manson, J.E.; Lichtenstein, A.H.; Sesso, H.D. Dietary supplements and disease prevention - a global overview. *Nat Rev Endocrinol* **2016**, *12*, 407-420, doi:10.1038/nrendo.2016.54.
39. Chen, F.; Du, M.; Blumberg, J.B.; Ho Chui, K.K.; Ruan, M.; Rogers, G.; Shan, Z.; Zeng, L.; Zhang, F.F. Association Among Dietary Supplement Use, Nutrient Intake, and Mortality Among U.S. Adults: A Cohort Study. *Ann Intern Med* **2019**, *170*, 604-613, doi:10.7326/m18-2478.
40. Cowan, A.E.; Jun, S.; Gahche, J.J.; Tooze, J.A.; Dwyer, J.T.; Eicher-Miller, H.A.; Bhadra, A.; Guenther, P.M.; Potischman, N.; Dodd, K.W.; et al. Dietary Supplement Use Differs by Socioeconomic and Health-Related Characteristics

- among U.S. Adults, NHANES 2011-2014. *Nutrients* **2018**, *10*, doi:10.3390/nu10081114.
41. Mishra, S.; Stierman, B.; Gahche, J.J.; Potischman, N. Dietary Supplement Use Among Adults: United States, 2017-2018. *NCHS Data Brief* **2021**, 1-8.
  42. Li, K.; Kaaks, R.; Linseisen, J.; Rohrmann, S. Vitamin/mineral supplementation and cancer, cardiovascular, and all-cause mortality in a German prospective cohort (EPIC-Heidelberg). *Eur J Nutr* **2012**, *51*, 407-413, doi:10.1007/s00394-011-0224-1.
  43. Marques-Vidal, P.; Pécout, A.; Hayoz, D.; Paccaud, F.; Mooser, V.; Waeber, G.; Vollenweider, P. Prevalence and characteristics of vitamin or dietary supplement users in Lausanne, Switzerland: the CoLaus study. *Eur J Clin Nutr* **2009**, *63*, 273-281, doi:10.1038/sj.ejcn.1602932.
  44. Rock, C.L. Multivitamin-multimineral supplements: who uses them? *Am J Clin Nutr* **2007**, *85*, 277s-279s, doi:10.1093/ajcn/85.1.277S.
  45. Rontogianni, M.O.; Kanellopoulou, A.; Markozannes, G.; Bouras, E.; Derdemezis, C.; Doumas, M.T.; Sigounas, D.E.; Tzovaras, V.T.; Vakalis, K.; Panagiotakos, D.B.; et al. Prevalence and Determinants of Sex-Specific Dietary Supplement Use in a Greek Cohort. *Nutrients* **2021**, *13*, doi:10.3390/nu13082857.
  46. Schwarzpaul, S.; Strassburg, A.; Luhrmann, P.M.; Neuhauser-Berthold, M. Intake of vitamin and mineral supplements in an elderly german population. *Ann Nutr Metab* **2006**, *50*, 155-162, doi:10.1159/000090728.
  47. Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (efsa). Nahrungsergänzungsmittel. Available online: <https://www.efsa.europa.eu/de/topics/topic/food-supplements> (accessed on 30.08.2023).
  48. Aronson, J.K. Defining 'nutraceuticals': neither nutritious nor pharmaceutical. *Br J Clin Pharmacol* **2017**, *83*, 8-19, doi:10.1111/bcp.12935.
  49. Dickinson, A.; Blatman, J.; El-Dash, N.; Franco, J.C. Consumer usage and reasons for using dietary supplements: report of a series of surveys. *J Am Coll Nutr* **2014**, *33*, 176-182, doi:10.1080/07315724.2013.875423.
  50. Lichtenstein, A.H.; Appel, L.J.; Vadiveloo, M.; Hu, F.B.; Kris-Etherton, P.M.; Rebholz, C.M.; Sacks, F.M.; Thorndike, A.N.; Van Horn, L.; Wylie-Rosett, J. 2021 Dietary Guidance to Improve Cardiovascular Health: A Scientific

- Statement From the American Heart Association. *Circulation* **2021**, *144*, e472-e487, doi:10.1161/cir.0000000000001031.
51. Chhabra, J.S.; Juneja, A.; Etkin, Y.; Landis, G.; Gardener, H.; Garuthara, M.; Hoffstaetter, T.; Oropallo, A. The effect of nutrition on stroke risk: A systematic review. *Nutr Health* **2023**, *29*, 255-267, doi:10.1177/02601060221122218.
  52. Ingles, D.P.; Cruz Rodriguez, J.B.; Garcia, H. Supplemental Vitamins and Minerals for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment. *Curr Cardiol Rep* **2020**, *22*, 22, doi:10.1007/s11886-020-1270-1.
  53. Jenkins, D.J.A.; Spence, J.D.; Giovannucci, E.L.; Kim, Y.I.; Josse, R.G.; Vieth, R.; Sahye-Pudaruth, S.; Paquette, M.; Patel, D.; Blanco Mejia, S.; et al. Supplemental Vitamins and Minerals for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: JACC Focus Seminar. *J Am Coll Cardiol* **2021**, *77*, 423-436, doi:10.1016/j.jacc.2020.09.619.
  54. Li, Y.; Huang, T.; Zheng, Y.; Muka, T.; Troup, J.; Hu, F.B. Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc* **2016**, *5*, doi:10.1161/jaha.116.003768.
  55. Tian, T.; Yang, K.Q.; Cui, J.G.; Zhou, L.L.; Zhou, X.L. Folic Acid Supplementation for Stroke Prevention in Patients With Cardiovascular Disease. *Am J Med Sci* **2017**, *354*, 379-387, doi:10.1016/j.amjms.2017.05.020.
  56. Khan, S.U.; Khan, M.U.; Riaz, H.; Valavoor, S.; Zhao, D.; Vaughan, L.; Okunrintemi, V.; Riaz, I.B.; Khan, M.S.; Kaluski, E.; et al. Effects of Nutritional Supplements and Dietary Interventions on Cardiovascular Outcomes: An Umbrella Review and Evidence Map. *Ann Intern Med* **2019**, *171*, 190-198, doi:10.7326/m19-0341.
  57. Jagodzinski, A.; Johansen, C.; Koch-Gromus, U.; Aarabi, G.; Adam, G.; Anders, S.; Augustin, M.; der Kellen, R.B.; Beikler, T.; Behrendt, C.A.; et al. Rationale and Design of the Hamburg City Health Study. *Eur J Epidemiol* **2020**, *35*, 169-181, doi:10.1007/s10654-019-00577-4.
  58. Odhner, I. *JS Paint*.
  59. Spahl, L. Automatische Dichtebestimmung von Plaques in der Arteria carotis. Projektpraktikumsbericht im Rahmen des Studienganges Medizinische Informatik der Universität zu Lübeck durchgeführt am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg. **2019**.

60. Petroudi, S.; Loizou, C.; Pantziaris, M.; Pattichis, C. Segmentation of the common carotid intima-media complex in ultrasound images using active contours. *IEEE Trans Biomed Eng* **2012**, *59*, 3060-3069, doi:10.1109/tbme.2012.2214387.
61. Kyriacou, E.; Pattichis, M.S.; Pattichis, C.S.; Mavrommatis, A.; Christodoulou, C.I.; Kakkos, S.; Nicolaides, A. Classification of atherosclerotic carotid plaques using morphological analysis on ultrasound images. *Applied Intelligence* **2009**, *30*, 3-23, doi:10.1007/s10489-007-0072-0.
62. Nothlings, U.; Hoffmann, K.; Bergmann, M.M.; Boeing, H. Fitting portion sizes in a self-administered food frequency questionnaire. *J Nutr* **2007**, *137*, 2781-2786, doi:10.1093/jn/137.12.2781.
63. Van Buuren, S.; Groothuis-Oudshoorn, K. mice: Multivariate imputation by chained equations in R. *Journal of statistical software* **2011**, *45*, 1-67.
64. Schneider, S.L. The classification of education in surveys: a generalized framework for ex-post harmonization. *Quality & Quantity* **2022**, *56*, 1829-1866, doi:10.1007/s11135-021-01101-1.
65. Von Elm, E.; Altman, D.G.; Egger, M.; Pocock, S.J.; Gøtzsche, P.C.; Vandenbroucke, J.P.; Initiative, S. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *International journal of surgery* **2014**, *12*, 1495-1499.
66. R Core Team *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, 4.0.3; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2020.
67. Li, K.; Kaaks, R.; Linseisen, J.; Rohrmann, S. Consistency of vitamin and/or mineral supplement use and demographic, lifestyle and health-status predictors: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heidelberg cohort. *Br J Nutr* **2010**, *104*, 1058-1064, doi:10.1017/s0007114510001728.
68. Radimer, K.; Bindewald, B.; Hughes, J.; Ervin, B.; Swanson, C.; Picciano, M.F. Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Am J Epidemiol* **2004**, *160*, 339-349, doi:10.1093/aje/kwh207.
69. Qin, X.; Xu, M.; Zhang, Y.; Li, J.; Xu, X.; Wang, X.; Xu, X.; Huo, Y. Effect of folic acid supplementation on the progression of carotid intima-media thickness: a

- meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis* **2012**, *222*, 307-313, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.12.007.
70. Biasi, G.M.; Sampaolo, A.; Mingazzini, P.; De Amicis, P.; El-Barghouty, N.; Nicolaidis, A.N. Computer analysis of ultrasonic plaque echolucency in identifying high risk carotid bifurcation lesions. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **1999**, *17*, 476-479, doi:10.1053/ejvs.1999.0789.
  71. Gupta, A.; Kesavabhotla, K.; Baradaran, H.; Kamel, H.; Pandya, A.; Giambone, A.E.; Wright, D.; Pain, K.J.; Mtui, E.E.; Suri, J.S.; et al. Plaque echolucency and stroke risk in asymptomatic carotid stenosis: a systematic review and meta-analysis. *Stroke* **2015**, *46*, 91-97, doi:10.1161/strokeaha.114.006091.
  72. Grønholdt, M.L.; Nordestgaard, B.G.; Schroeder, T.V.; Vorstrup, S.; Sillesen, H. Ultrasonic echolucent carotid plaques predict future strokes. *Circulation* **2001**, *104*, 68-73, doi:10.1161/hc2601.091704.
  73. Rozalski, R.; Migdalski, A.; Gackowski, D.; Guz, J.; Siomek, A.; Foksinski, M.; Szpila, A.; Zarakowska, E.; Majer, M.; Jawien, A.; et al. Does morphology of carotid plaque depend on patient's oxidative stress? *Clin Biochem* **2013**, *46*, 1030-1035, doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.05.057.
  74. Schwingshackl, L.; Boeing, H.; Stelmach-Mardas, M.; Gottschald, M.; Dietrich, S.; Hoffmann, G.; Chaimani, A. Dietary Supplements and Risk of Cause-Specific Death, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Primary Prevention Trials. *Adv Nutr* **2017**, *8*, 27-39, doi:10.3945/an.116.013516.
  75. Jenkins, D.J.A.; Kitts, D.; Giovannucci, E.L.; Sahye-Pudaruth, S.; Paquette, M.; Blanco Mejia, S.; Patel, D.; Kavanagh, M.; Tsirakis, T.; Kendall, C.W.C.; et al. Selenium, antioxidants, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* **2020**, *112*, 1642-1652, doi:10.1093/ajcn/nqaa245.
  76. Deutschland konsumiert mehr Nahrungsergänzungsmittel als je zuvor. Available online: <https://www.tagblatt.de/Nachrichten/Deutschland-konsumiert-mehr-Nahrungsergaenzungsmittel-als-je-zuvor-419290.html> (accessed on 03.10.2022).
  77. DEUTSCHER MARKT FÜR NAHRUNGSERGÄNZUNGSMITTEL ERREICHT 2020 UMSATZ VON 1,35 MRD. €. Available online: <https://de.mintel.com/pressestelle/deutscher-markt-fuer->

- nahrungsergaenzungsmittel-erreicht-2020-umsatz-von-135-mrd-e (accessed on 03.10.2022).
78. Del Gobbo, L.C.; Imamura, F.; Wu, J.H.; de Oliveira Otto, M.C.; Chiuve, S.E.; Mozaffarian, D. Circulating and dietary magnesium and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* **2013**, *98*, 160-173, doi:10.3945/ajcn.112.053132.
  79. Guo, G.; Zhou, J.; Xu, T.; Sheng, Z.; Huang, A.; Sun, L.; Yao, L. Effect of Magnesium Supplementation on Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder in Hemodialysis Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Ren Nutr* **2022**, *32*, 102-111, doi:10.1053/j.jrn.2021.07.009.
  80. Hosseini, B.; Saedisomeolia, A.; Skilton, M.R. Association between Micronutrients Intake/Status and Carotid Intima Media Thickness: A Systematic Review. *J Acad Nutr Diet* **2017**, *117*, 69-82, doi:10.1016/j.jand.2016.09.031.
  81. Bagheri, A.; Naghshi, S.; Sadeghi, O.; Larijani, B.; Esmailzadeh, A. Total, Dietary, and Supplemental Magnesium Intakes and Risk of All-Cause, Cardiovascular, and Cancer Mortality: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Adv Nutr* **2021**, doi:10.1093/advances/nmab001.
  82. Darooghegi Mofrad, M.; Djafarian, K.; Mozaffari, H.; Shab-Bidar, S. Effect of magnesium supplementation on endothelial function: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis* **2018**, *273*, 98-105, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.04.020.
  83. Michaëlsson, K.; Melhus, H.; Warensjö Lemming, E.; Wolk, A.; Byberg, L. Long term calcium intake and rates of all cause and cardiovascular mortality: community based prospective longitudinal cohort study. *Bmj* **2013**, *346*, f228, doi:10.1136/bmj.f228.
  84. Xiao, Q.; Murphy, R.A.; Houston, D.K.; Harris, T.B.; Chow, W.H.; Park, Y. Dietary and supplemental calcium intake and cardiovascular disease mortality: the National Institutes of Health-AARP diet and health study. *JAMA Intern Med* **2013**, *173*, 639-646, doi:10.1001/jamainternmed.2013.3283.
  85. Bolland, M.J.; Barber, P.A.; Doughty, R.N.; Mason, B.; Horne, A.; Ames, R.; Gamble, G.D.; Grey, A.; Reid, I.R. Vascular events in healthy older women receiving calcium supplementation: randomised controlled trial. *Bmj* **2008**, *336*, 262-266, doi:10.1136/bmj.39440.525752.BE.

86. Bolland, M.J.; Grey, A.; Avenell, A.; Gamble, G.D.; Reid, I.R. Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events: reanalysis of the Women's Health Initiative limited access dataset and meta-analysis. *Bmj* **2011**, *342*, d2040, doi:10.1136/bmj.d2040.
87. Myung, S.K.; Kim, H.B.; Lee, Y.J.; Choi, Y.J.; Oh, S.W. Calcium Supplements and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Clinical Trials. *Nutrients* **2021**, *13*, doi:10.3390/nu13020368.
88. Naghshi, S.; Naemi, M.; Sadeghi, O.; Darooghegi Mofrad, M.; Moezrad, M.; Azadbakht, L. Total, dietary, and supplemental calcium intake and risk of all-cause cardiovascular, and cancer mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Crit Rev Food Sci Nutr* **2021**, 1-12, doi:10.1080/10408398.2021.1890690.
89. Raffield, L.M.; Agarwal, S.; Hsu, F.C.; de Boer, I.H.; Ix, J.H.; Siscovick, D.; Szklo, M.; Burke, G.L.; Frazier-Wood, A.C.; Herrington, D.M. The association of calcium supplementation and incident cardiovascular events in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **2016**, *26*, 899-907, doi:10.1016/j.numecd.2016.07.007.
90. Yang, C.; Shi, X.; Xia, H.; Yang, X.; Liu, H.; Pan, D.; Sun, G. The Evidence and Controversy Between Dietary Calcium Intake and Calcium Supplementation and the Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies and Randomized Controlled Trials. *J Am Coll Nutr* **2020**, *39*, 352-370, doi:10.1080/07315724.2019.1649219.
91. Lewis, J.R.; Zhu, K.; Thompson, P.L.; Prince, R.L. The effects of 3 years of calcium supplementation on common carotid artery intimal medial thickness and carotid atherosclerosis in older women: an ancillary study of the CAIFOS randomized controlled trial. *J Bone Miner Res* **2014**, *29*, 534-541, doi:10.1002/jbmr.2117.
92. Huang, T.; Chen, Y.; Yang, B.; Yang, J.; Wahlqvist, M.L.; Li, D. Meta-analysis of B vitamin supplementation on plasma homocysteine, cardiovascular and all-cause mortality. *Clin Nutr* **2012**, *31*, 448-454, doi:10.1016/j.clnu.2011.01.003.
93. Kwok, T.; Chook, P.; Qiao, M.; Tam, L.; Poon, Y.K.; Ahuja, A.T.; Woo, J.; Celermajer, D.S.; Woo, K.S. Vitamin B-12 supplementation improves arterial function in vegetarians with subnormal vitamin B-12 status. *J Nutr Health Aging* **2012**, *16*, 569-573, doi:10.1007/s12603-012-0036-x.

94. Marcucci, R.; Zanazzi, M.; Bertoni, E.; Rosati, A.; Fedi, S.; Lenti, M.; Prisco, D.; Castellani, S.; Abbate, R.; Salvadori, M. Vitamin supplementation reduces the progression of atherosclerosis in hyperhomocysteinemic renal-transplant recipients. *Transplantation* **2003**, *75*, 1551-1555, doi:10.1097/01.Tp.0000058810.59825.58.
95. Ntaios, G.; Savopoulos, C.; Karamitsos, D.; Economou, I.; Destanis, E.; Chrysogonidis, I.; Pidonia, I.; Zebekakis, P.; Polatides, C.; Sion, M.; et al. The effect of folic acid supplementation on carotid intima-media thickness in patients with cardiovascular risk: a randomized, placebo-controlled trial. *Int J Cardiol* **2010**, *143*, 16-19, doi:10.1016/j.ijcard.2009.01.023.
96. Debreceni, B.; Debreceni, L. The role of homocysteine-lowering B-vitamins in the primary prevention of cardiovascular disease. *Cardiovasc Ther* **2014**, *32*, 130-138, doi:10.1111/1755-5922.12064.
97. Durga, J.; Bots, M.L.; Schouten, E.G.; Grobbee, D.E.; Kok, F.J.; Verhoef, P. Effect of 3 y of folic acid supplementation on the progression of carotid intima-media thickness and carotid arterial stiffness in older adults. *Am J Clin Nutr* **2011**, *93*, 941-949, doi:10.3945/ajcn.110.006429.
98. Nicoll, R.; Howard, J.M.; Henein, M.Y. A review of the effect of diet on cardiovascular calcification. *Int J Mol Sci* **2015**, *16*, 8861-8883, doi:10.3390/ijms16048861.
99. van Dijk, S.C.; Enneman, A.W.; Swart, K.M.; van Wijngaarden, J.P.; Ham, A.C.; Brouwer-Brolsma, E.M.; van der Zwaluw, N.L.; Blom, H.J.; Feskens, E.J.; Geleijnse, J.M.; et al. Effects of 2-year vitamin B12 and folic acid supplementation in hyperhomocysteinemic elderly on arterial stiffness and cardiovascular outcomes within the B-PROOF trial. *J Hypertens* **2015**, *33*, 1897-1906; discussion 1906, doi:10.1097/hjh.0000000000000647.
100. Chambers, J.C.; Ueland, P.M.; Obeid, O.A.; Wrigley, J.; Refsum, H.; Kooner, J.S. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins: An effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine. *Circulation* **2000**, *102*, 2479-2483, doi:10.1161/01.cir.102.20.2479.
101. Alsulaimani, S.; Gardener, H.; Elkind, M.S.; Cheung, K.; Sacco, R.L.; Rundek, T. Elevated homocysteine and carotid plaque area and densitometry in the Northern Manhattan Study. *Stroke* **2013**, *44*, 457-461, doi:10.1161/strokeaha.112.676155.

102. Lind, L.; Andersson, J.; Rönn, M.; Gustavsson, T.; Holdfelt, P.; Hulthe, J.; Elmgren, A.; Zilmer, K.; Zilmer, M. Brachial artery intima-media thickness and echogenicity in relation to lipids and markers of oxidative stress in elderly subjects--the prospective investigation of the vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) Study. *Lipids* **2008**, *43*, 133-141, doi:10.1007/s11745-007-3125-6.
103. Ruiz-León, A.M.; Lapuente, M.; Estruch, R.; Casas, R. Clinical Advances in Immunonutrition and Atherosclerosis: A Review. *Front Immunol* **2019**, *10*, 837, doi:10.3389/fimmu.2019.00837.
104. Potter, K.; Hankey, G.J.; Green, D.J.; Eikelboom, J.; Jamrozik, K.; Arnolda, L.F. The effect of long-term homocysteine-lowering on carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilation in stroke patients: a randomized controlled trial and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord* **2008**, *8*, 24, doi:10.1186/1471-2261-8-24.
105. Eilat-Adar, S.; Sinai, T.; Yosefy, C.; Henkin, Y. Nutritional recommendations for cardiovascular disease prevention. *Nutrients* **2013**, *5*, 3646-3683, doi:10.3390/nu5093646.
106. Deutsche Gesellschaft für Prävention und Rehabilitation von Herz-Kreislaufkrankungen e.V. (DGPR). S3-Leitlinie zur kardiologischen Rehabilitation (LL-KardReha) im deutschsprachigen Raum Europas Deutschland, Österreich, Schweiz (D-A-CH), Version 1.1. Available online: <https://register.awmf.org/de/leitlinien/detail/133-001> (accessed on 26.05.2023).
107. Visseren, F.L.J.; Mach, F.; Smulders, Y.M.; Carballo, D.; Koskinas, K.C.; Bäck, M.; Benetos, A.; Biffi, A.; Boavida, J.-M.; Capodanno, D.; et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *European Heart Journal* **2021**, *42*, 3227-3337, doi:10.1093/eurheartj/ehab484.
108. Kim, I.; Williamson, D.F.; Byers, T.; Koplan, J.P. Vitamin and mineral supplement use and mortality in a US cohort. *Am J Public Health* **1993**, *83*, 546-550, doi:10.2105/ajph.83.4.546.
109. Catalan, M.; Herreras, Z.; Pinyol, M.; Sala-Vila, A.; Amor, A.J.; de Groot, E.; Gilibert, R.; Ros, E.; Ortega, E. Prevalence by sex of preclinical carotid

- atherosclerosis in newly diagnosed type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **2015**, *25*, 742-748, doi:10.1016/j.numecd.2015.04.009.
110. de Kreutzenberg, S.V.; Coracina, A.; Volpi, A.; Fadini, G.P.; Frigo, A.C.; Guarneri, G.; Tiengo, A.; Avogaro, A. Microangiopathy is independently associated with presence, severity and composition of carotid atherosclerosis in type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **2011**, *21*, 286-293, doi:10.1016/j.numecd.2009.10.003.
111. Harari, F.; Barregard, L.; Östling, G.; Sallsten, G.; Hedblad, B.; Forsgard, N.; Borné, Y.; Fagerberg, B.; Engström, G. Blood Lead Levels and Risk of Atherosclerosis in the Carotid Artery: Results from a Swedish Cohort. *Environ Health Perspect* **2019**, *127*, 127002, doi:10.1289/ehp5057.
112. Li, C.; Engström, G.; Berglund, G.; Janzon, L.; Hedblad, B. Incidence of ischemic stroke in relation to asymptomatic carotid artery atherosclerosis in subjects with normal blood pressure. A prospective cohort study. *Cerebrovasc Dis* **2008**, *26*, 297-303, doi:10.1159/000149577.
113. Rundek, T.; Arif, H.; Boden-Albala, B.; Elkind, M.S.; Paik, M.C.; Sacco, R.L. Carotid plaque, a subclinical precursor of vascular events: the Northern Manhattan Study. *Neurology* **2008**, *70*, 1200-1207, doi:10.1212/01.wnl.0000303969.63165.34.
114. Terschuren, C.; Damerou, L.; Petersen, E.L.; Harth, V.; Augustin, M.; Zyriax, B.C. Association of Dietary Pattern, Lifestyle and Chronotype with Metabolic Syndrome in Elderly-Lessons from the Population-Based Hamburg City Health Study. *Int J Environ Res Public Health* **2021**, *19*, doi:10.3390/ijerph19010377.

## 4. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

Ich begann meine Arbeit als Doktorandin im Rahmen der HCHS, nachdem die Ultraschalldaten von Studienassistenten und -assistentinnen generiert wurden. Meine Aufgabe war es zusammen mit weiteren Doktoranden und Doktorandinnen nach einer Schulung aus den Ultraschalldatensätzen die Daten zu den GSM-Werten zu erheben und auszuwerten. Mein Eigenanteil und ebenfalls der von Martje Dorothea Sältz (geteilte Erstautorinnenschaft und Mitdoktorandin) an der Publikation erstreckt sich auf die Konzipierung des Manuskriptes, die Überarbeitung von Tabellen und Grafiken, sowie die Erarbeitung des Diskussionsteils. Weiterhin erfolgte durch uns die Einarbeitung von Anmerkungen der Koautoren/ Koautorinnen und die Überprüfung und Überarbeitung im Rahmen des Review-Prozesses des Manuskriptes.

Frederik Peters (PhD) und Elina Larissa Petersen (PhD) haben die statistische Analyse der Daten durchgeführt und haben an der Visualisierung des Papers durch Erstellung von Tabellen und Grafiken in der Rohfassung sowie in der Überarbeitung des Papers im Rahmen des Review-Prozesses mitgewirkt.

PD Dr. med. Christian-Alexander Behrendt trug zur Administration und Supervision der Studie bei und hat das Manuskript überprüft und überarbeitet.

Dr. rer. pol. Ines Schäfer und Dr. med. Annika Jagodzinski waren für das Datenmanagement und die Administration der Studie verantwortlich. Dr. med. Annika Jagodzinski war weiterhin an der Qualitätskontrolle der Daten beteiligt.

Prof. Dr. med. Stefan Blankenberg und Prof. Dr. med. Raphael Twerenbold agierten als Experten im Bereich Kardiologie und haben zur Diskussion beigetragen.

Prof. Dr. med. Götz Thomalla und Dr. med. David Leander Rimmele waren an der Datenqualitätskontrolle beteiligt und trugen durch ihren neurologischen Fachbereich zum Diskussionsteil bei.

Dr. Nataliya Makarovas (DrPH) war an der Aufbereitung der Daten durch Erstellung eines Plans für die statistischen Analysen beteiligt. Sie und Prof. Dr. oec. troph. Birgit-Christiane Zyriax haben zur Administration und Supervision der Studie beigetragen, an der Diskussion mitgewirkt und weiterhin das Manuskript überprüft und überarbeitet. Prof. Dr. Birgit-Christiane Zyriax entwickelte darüber hinaus die Methoden und Fragebögen zur Datenerhebung der Ernährung. Weiterhin erfolgte durch Frau Prof. Dr. Zyriax und Frau Dr. Makarova eine intensive Betreuung dieser Promotion.

## 5. Danksagung

Mein Dank gilt all denen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit betreut und unterstützt haben.

Zuerst meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. oec. troph. Birgit-Christiane Zyriax, die mir die Möglichkeit gab, diese Promotion zu verwirklichen und mir bei Fragen mit Rat und Tat zur Seite stand. Ein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Nataliya Makarowa, die bei Problemen immer ausgeholfen hat und sich für die Umsetzung der Publikation des Papers und für die Durchführung der gesamten Promotion maßgeblich miteingesetzt hat.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei meiner Mitdoktorandin und Freundin Martje Sältz, mit der ich zusammen in geteilter Erstautorinnenschaft das Paper verfasst habe. Wir standen uns stets zur Seite und haben als Team stets super funktioniert. Ohne dich hätte es längst nicht so viel Spaß gemacht. Wir haben Verzweiflungsphasen geteilt und immer gemeinsam lösen können.

Ein weiterer Dank gilt Frederik Peters (PhD) und Elina Larissa Petersen (PhD) für die Unterstützung bei den statistischen Analysen.

Auch bedanken möchte ich mich, bei den anderen Doktoranden und Doktorandinnen aus unserer „Karotisplaque-Gruppe“ für die Unterstützung und Mitwirkung bei der Datenerhebung.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Partner, meinen Freunden und meiner Familie für die Geduld, aufmunternde Worte und liebevolle Unterstützung.

## **6. Lebenslauf**

Lebenslauf aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten.

## 7. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....